ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. IV No 3

1 9 5 5

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
23 OCT 1955

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW
SEKCJA MIKROBIOLOGII OGÓLNEJ, ROLNICZEJ I PRZEMYSŁOWEJ

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. IV No 3

1955
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

RADA REDAKCYJNA

Przewodniczący: Jadwiga Ziemięcka, członek-korespondent PAN — Lublin, Kazimierz Bassalik, członek tytularny PAN— Warszawa, Józef Heller, członek-korespondent PAN — Warszawa, Jadwiga Jakubowska — Łódź, Adolf Joszt — Gliwice, Aniela Kozłowska — Kraków, Władysław Kunicki-Goldfinger — Lublin, Eugeniusz Pijanowski — członek-korespondent PAN — Warszawa, Feliks Przesmycki — Warszawa.

KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny — Władysław Kunicki-Goldfinger
Sekretarz Redakcji — Kazimierz Dygdała

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — DZIAŁ CZASOPISM
WARSZAWA, ULICA KRAKOWSKIE PRZEDMIEŚCIE Nr 79

Nakład 1128 + 179 egz.	Oddano do składania 15.6.55
Ark. wyd. 6,1. Ark. druk. 4,25	Podpisano do druku 5.9.55
Papier Bezdrz. III kl. 80 g, 70 × 100/16	Druk ukończono we wrześniu 1955
Cena zł 10.—	Zam. 747c/55. B-6-9661

Drukarnia im. Rewolucji Październikowej, Warszawa

B. Zabłocki i *M. Rolicka*

WPŁYW SYMPLEKSÓW LIPIDO-WIELOCUKROWO-BIAŁKOWYCH NA WRAŻLIWOŚĆ GRONKOWCÓW W STOSUNKU DO PENICYLINY *)

Z Zakładu Mikrobiologii Szczegółowej Uniwersytetu Łódzkiego w Łodzi

Wpłynęło dn. 27.IV.1955 r.

Przyjęty jest między innymi podział antybiotyków na dwie duże grupy:

1) antybiotyki aktywne w stosunku do wielu typów bakterii (aureomycyna, terramycyna, biomycyna itd), 2) antybiotyki działające bardziej wybiórczo (penicylina, gramicydyna, cytrynina, aktinomycyna itp).

Mechanizm wybiórczego działania penicyliny i innych antybiotyków na drobnoustroje gramdodatnie i niektóre ziarniaki gramujemne (rodzaju *Neisseria*) jest jak dotąd ostatecznie niewyjaśniony. Należy podkreślić, że zagadnieniu większej wrażliwości drobnoustrojów gramdodatnich na penicylinę lub inne antybiotyki i zagadnieniu względnej niewrażliwości naturalnej drobnoustrojów gramujemnych na te antybiotyki poświęcono zbyt mało uwagi. Zdaje się nie ulegać wątpliwości, że rozwiązanie tych zagadnień (a zwłaszcza drugiego) przyczyniłoby się w pewnym stopniu do poznania mechanizmu nabytej oporności na antybiotyki.

Różnice reakcji bakterii gramdodatnich i gramujemnych na bakteriostatyczne działanie antybiotyków typu penicyliny tłumaczono odmiennymi właściwościami strukturalnymi, chemicznymi i biologicznymi tych dwóch grup drobnoustrojów (D u b o s, 1945). Bakterie gramdodatnie są bardziej wytrzymałe na działanie enzymów proteolitycznych (pepsyny, trypsyny) i lityczne działanie zasad; są natomiast bardziej wrażliwe na bakteriostatyczne działanie detergentów zarówno anionowych, jak i kationowych oraz barwików zasadowych (B a r t h o l o m e w i M i t t w e r 1952). Stosunkowo nieliczne natomiast związki chemiczne wykazują wybiórczo hamujące działanie na wzrost drobnoustrojów gramujemnych, np. azydek sodu, teluryn potasu i niektóre słabo działające związki utleniające (P a c k e r 1943, M a l l m a n n, B o t w r i g h t i C h u r c h i l l 1941).

*) Za pomoc techniczną przy wykonywaniu tej pracy serdecznie dziękujemy studentom L. Sedlaczkowi, M. Werner, J. Kulik i U. Urselowi.

Znaczne osłabienie a niekiedy pełną utratę właściwości barwienia się metodą Grama zaobserwowano przy występowaniu zjawiska nabytej oporności na penicylinę (Bellamy i Klimek 1948).

Dla wyjaśnienia zjawiska naturalnej niewrażliwości (oporności) bakterii gramujemnych na działanie penicyliny i pewnych innych związków chemicznych wysunięto następujące trzy hipotezy (Abraham, 1949):

1. Elektrokinetyczne zachowanie się bakterii gramdodatnich i gramujemnych a także ich powinowactwo do barwików zasadowych i kwaśnych przy różnych wartościach pH dowodzą, że powierzchowne warstwy u pierwszych posiadają charakter bardziej kwasowy niż u drugich. Punkty izoelektryczne dla bakterii gramdodatnich znajdują się w pobliżu pH 2,0 a dla gramujemnych w granicach pH od 4,0 do 5,0 (Stearn i Stearn, 1930). Dane te mogą tłumaczyć zjawisko mniejszej wrażliwości bakterii gramujemnych na działanie substancji bakteriostatycznych o charakterze zasadowym. Tłumaczenia tego jednakże nie można uogólnić, gdyż wiele substancji bakteriostatycznych o charakterze kwasowym także działa wybiórczo na bakterie gramdodatnie.

2. Liczne gramujemne bakterie są względnie niezależne od składu podłoża w zaspokajaniu swych potrzeb odżywczych i dlatego są bardziej oporne na działanie inhibitorów, które nie pozwalają na wykorzystanie witaminy lub aminokwasu — hamując ich przenikanie do wnętrza komórki przez błonę komórkową. Na przykład wewnątrzkomórkowe gromadzenie kwasu glutaminowego przez gronkowce jest hamowane przez penicylinę (Gale i Taylor, 1947). Bakterie gramujemne syntezujące aminokwasy są też bardziej ,oporne na penicylinę niż gramdodatnie, które wymagają obecności aminokwasów w podłożu.

3. Na powierzchni bakterii gramujemnych znajduje się fosfatyd (typu kefaliny), który tworzy sympleks z białkiem i wielocukrem. Z bakterii gramdodatnich takiego sympleksu nie udało się wyosobnić (Boivin 1942, Partrige i Morgan 1942, Zabłocki i Morzycki 1935, Mikulaszek i Ratomski 1946). Rozporządzamy danymi doświadczalnymi, świadczącymi o tym, że fosfatydy (a zwłaszcza typu kefaliny) chronią bakterie przed szkodliwym działaniem detergentów i niektórych antybiotyków. Dodatek do podłoża nieznacznych ilości kefaliny chroni bakterie gramdodatnie przed szkodliwym działaniem gramicydyny i podobnych antybiotyków (Dubos 1945). Można zatem przypuścić, że sympleks lipido-wielocukrowo-białkowy, znajdujący się na powierzchni bakterii gramujemnych, decyduje o ich naturalnej niewrażliwości na penicylinę i detergenty (Abraham i Chain 1940, Kastorska i Pasynski 1950). Potwierdzenie tego poglądu uzyskano też na innej drodze: przez wytrącenie kefaliny protaminą zdołano uwrażliwić pałeczkę okrężnicy na działanie tyrotrycyny i tergitolu 7 (typowego detergenta anionowego). Związki akrydynowe działają podobnie do protamin (Pittman 1944).

Praca nasza wiąże się bezpośrednio z trzecią hipotezą. Sposób rozwiązania tych zagadnień jest jednakże odmienny: 1. usiłujemy wykazać ochronne działanie nie za pomocą czystej kefaliny, lecz przez dodanie

wyosobnionych sympleksów lipido-wielocukrowo-białkowych z niektórych pałeczek gramujemnych; 2. chcemy się przekonać, czy wystąpią różnice w działaniu ochronnym sympleksów wyosobnionych z różnych gatunków pałeczek gramujemnych (*Escherichia coli, Shigella sonnei, Salmonella paratyphi B, Proteus vulgaris*).

METODYKA

Sympleksy z pałeczek gramujemnych, postaci *S* otrzymywano metodą Zabłockiego i Morzyckiego (1935).

Oznaczanie wrażliwości bakterii na bakteriostatyczne działanie penicyliny wykonywano metodą rozcieńczeń według Rammelkampa i Maxona (1942).

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Do badań użyto penicyliny krystalicznej krajowej, której moc oznaczono za pomocą penicyliny wzorcowej i szczepu wzorcowego gronkowców *).

Do badań wybrano 20 szczepów gronkowca złocistego, wyizolowanych z materiału chorobowego i wrażliwych na działanie penicyliny (dawka bakteriostatyczna poniżej 0,1 j/ml).

Sympleksy lipido-wielocukrowo-białkowe wyosobniono z *E. coli, Sh. sonnei, S. paratyphi B* i *P. vulgaris*.

Do zawiesiny badanego szczepu gronkowca (10.000 drobnoustrojów w 1 ml) w bulionie dodawano różne dawki sympleksów i pozostawiano na przeciąg jednej godziny w temperaturze pokojowej. Następnie dodawano penicylinę w różnych dawkach. Wynik odczytywano po 48 godzinach. Jednocześnie nastawiano szereg kontrolny bez dodatku sympleksu.

Dodatek sympleksów do roztworów penicyliny nie wpływa na obniżenie jej mocy, co sprawdzono przy zastosowaniu metody cylinderkowej. Wykorzystano przy tym tę okoliczność, że sympleksy nie dyfundują do agaru.

Wyniki doświadczeń z różnymi sympleksami wykonane na jednym ze szczepów gronkowca złocistego (nr 31) przedstawiają tabele I, II, III i IV.

Wnioski z tabeli I:

1. Dodatek sympleksu z *E. coli* do zawiesiny szczepu gronkowców nr 31 działa wybitnie ochronnie na drobnoustroje.
2. Aktywność ochronna sympleksu wzrasta wraz ze stężeniem.
3. Dawki 0,1 i 0,2% wywierają jednakowe działanie ochronne; dawka bakteriostatyczna penicyliny wzrasta 2048 razy w stosunku do kontroli.

Wnioski z tabeli II:

Sympleks z *S. paratyphi B* po dodaniu do zawiesiny szczepu gronkowca nr 31 wywiera bardzo słabe działanie ochronne i to dopiero w dużej dawce (0,2%).

*) Szczepy otrzymano od prof. Kuryłowicza.

Tabela I

Działanie ochronne sympleksu z *E. coli* na szczep gronkowca nr 31 w stosunku do penicyliny

Защитная активность симплекса из *E. coli* для золотистого стафилококка чувствительного к пенициллину

Changes in the susceptibility to penicillin of the *S. aureus*, Strain No 31 under the influence of the lipoid-polysaccharide-complex isolated from *E. coli*

Dawka sympleksu w %	Szereg rozcieńczeń penicyliny w j/ml															Wielokrotność dawki penicyliny
	50	25	12,5	6,25	3,125	1,562	0,782	0,390	0,185	0,097	0,048	0,024	0,012	0,006	K	
0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	0
0,02	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	8 razy
0,03	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	64 ,,
0,04	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	512 ,,
0,08	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	512 ,,
0,10	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2048 ,,
0,15	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2048 ,,
0,20	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2048 ,,

znak + oznacza wzrost gronkowców

Tabela II

Działanie ochronne sympleksu z *S. paratyphi B* na szczep gronkowca nr 31 w stosunku do penicyliny

Приобретение устойчивости к пенициллину золотистым стафилококком под влиянием симплекса из *S. paratyphi B.*

Changes in the susceptibility to penicillin of the *S. aureus*, Strain No 31 under the influence of lipoid-polysaccharide-complex isolated from *Salmonella paratyphi B* cells

Dawka sympleksu w %	Szereg rozcieńczeń penicyliny w j/ml										Wielokrotność dawki penicyliny
	1,0	0,5	0,25	0,125	0,062	0,031	0,015	0,007	0,0038	K	
0,	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	0
0,02	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	0
0,03	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	2 razy
0,04	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	2 ,,
0,08	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	2 ,,
0,10	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	2 ,,
0,15	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	4 ,,
0,20	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	8 ,,

Tabela III

Działanie ochronne sympleksu z *Sh. sonnei* na szczep gronkowca nr 31 w stosunku do penicyliny

Приобретение устойчивости к пенициллину золотистым стафилококком под влиянием симплекса из *Sh. sonnei*

Changes in the susceptibility to penicillin of the *S. aureus*, Strain No 31 under the influence of the lipoid-polysaccharide-complex isolated from *Shigella sonnei* cells

Dawka sympleksu w %	Szereg rozcieńczeń penicyliny w j/ml											Wielokrotność dawki penicyliny
	4,25	2,12	1,06	0,53	0'26	0,13	0,06	0,03	0,015	0,0075	K	
0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	0
0,02	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	8 razy
0,03	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	8 ,,
0,04	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	32 ,,
0,08	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	32 ,,
0,10	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	64 ,,
0,15	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	128 ,,

Tabela IV

Działanie ochronne sympleksu z *P. vulgaris* na szczep gronkowca nr 31 w stosunku do penicyliny

Приобретение устойчивости к пенициллину золотистым стафилококком под влиянием симплекса из *P. vulgaris*

Changes in the susceptibility to penicillin of the *S. aureus*, Strain No 31 under the influence of the lipoid-polysaccharide-complex isolated from *Proteus vulgaris* cells

Dawka sympleksu w %	Szereg rozcieńczeń penicyliny w j/ml									Wielokrotność dawki penicyliny
	1,0	0,5	0,25	0,125	0,062	0,031	0,015	0,0075	0,0038	K	
0	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	0
0,02	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	0
0,03	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	2 razy
0,04	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	2 ,,
0,08	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	2 ,,
0,10	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	2 ,,
0,15	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	4 ,,
0,20	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	8 ,,

Wnioski z tabeli III:

1. Sympleks z *Sh. sonnei* wywiera ochronne działanie na gronkowce (szczep nr 31) w stosunku do penicyliny.

2. Aktywność ochronna sympleksu wzrasta wraz ze stężeniem.

3. Przy optymalnej dawce (0,15%) sympleksu stężenie penicyliny działające bakteriostatycznie wzrasta 128 razy.

Wnioski z tabeli IV:

Sympleks z *P. vulgaris* po dodaniu do zawiesiny szczepu gronkowców nr 31 wywiera bardzo słabe działanie ochronne i to dopiero w dawce 0,2%.

Porównując wyniki doświadczeń nad ochronnym działaniem różnych sympleksów na ten sam szczep gronkowca złocistego w stosunku do penicyliny widzimy, że największą aktywność ochronną wykazuje sympleks z *E. coli*, słabiej działa sympleks z *Sh. sonnei*. Natomiast sympleksy z *S. paratyphi B* i *P. vulgaris* odznaczają się bardzo słabymi własnościami ochronnymi.

W dalszym ciągu zbadaliśmy w podobny sposób działanie ochronne powyższych czterech sympleksów (w jednej lub dwu dawkach) na 20 szczepach gronkowców złocistych wrażliwych na penicylinę. Wyniki doświadczeń zestawiono w tabeli V.

Tabela V

Porównawcze zestawienie działania ochronnego sympleksów w stosunku do 20 szczepów gronkowca złocistego

Изменения чувствительности к пенициллину золотистого стафилококка под влиянием симплексов из разных грам-отрицательных бактерий

The influence of the lipoid-polysaccharide-complexes from various gram-negative bacteria on the susceptibility to penicillin of 20 strains of *Staphylococcus aureus*

Bakteria z której wyosobniono sympleks	Stężenie w %	Wielokrotność dawek bakteriostatycznych penicyliny w stosunku do kontroli (bez dodatku sympleksu)										
		0	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
E.coli	0,08	—	—	—	—	—	3	4	8	3	—	2
S.paratyphi B	0,08	4	14	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,20	—	5	3	12	—	—	—	—	—	—	—
Sh.sonnei	0,05	—	—	1	3	—	4	8	4	—	—	—
	0,15	—	—	—	1	—	—	4	8	5	2	—
P.vulgaris	0,20	—	3	9	6	1	1	—	—	—	—	—

cyfry w tabeli oznaczają ilość szczepów.

Wyniki doświadczeń nad ochronnym działaniem sympleksów dadzą się ująć w następujące punkty:

1. Stwierdzono fakt ochronnego działania sympleksów lipido-wielocukrowo-białkowych (wyizolowanych z czterech gatunków pałeczek gramujemnych) na 20 szczepach gronkowca złocistego wrażliwych na działanie penicyliny.

2. Najsilniejsze działanie ochronne wykazują sympleksy z *E. coli* i *Sh. sonnei*. Działanie ochronne tych sympleksów wzrasta wraz z ich stężeniem.

3. Stopień aktywności sympleksu z *E. coli*, użytego w stężeniu 0,08%, w przybliżeniu odpowiada aktywności sympleksu z *Sh. sonnei* w stężeniu 0,15%.

4. Sympleksy z *S. paratyphi B* i *P. vulgaris* wykazują bardzo słabe działanie ochronne.

5. Różnice w ochronnym działaniu zbadanych sympleksów prawdopodobnie są związane z ich różną strukturą chemiczną.

6. Stwierdzono występowanie dużych różnic w stopniu odwrażliwienia na penicylinę różnych szczepów gronkowców pod wpływem ochronnego działania sympleksów.

7. Wyniki doświadczeń przemawiają na korzyść hipotezy trzeciej, o naturalnej niewrażliwości bakterii gramujemnych na penicylinę, powodowanej przez ochronne działanie sympleksów lipidowo-wielocukrowo-białkowych.

Б. Заблоцки и М. Ролицка

ВЛИЯНИЕ ЛИПИДО-ПОЛИОЗО-БЕЛКОВЫХ СИМПЛЕКСОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ СТАФИЛОКОККОВ К ПЕНИЦИЛЛИНУ

Резюме

Целью нашей работы является проверка гипотезы объяснявшей различиями химической структуры поверхностей бактериальных клеток натуральную устойчивость грамотрицательных бактерий против некоторых антибиотиков типа пенициллина, или чувствительность грамположительных бактерий к тем-же антибиотикам.

Грамотрицательные бактерии обладают поверхностно расположенным липидо-полиозо-белковым симплексом, которого не удалось выделить из грамположительных бактерий. По мнению некоторых авторов эти симплексы обусловливают натуральную устойчивость против антибиотиков типа пенициллина грамотрицательных бактерий.

Результаты исследований над защитным действием симплексов можно свести к следующим пунктам:

1. Установлена защитная активность липидо-полиозо-белковых симплексов (выделенных из четырех видов грамотрицательных палочек проверенная на 20 штаммах золотистого стафилококка, чувствительных к пенициллину.

2. Самое сильное защитное действие обнаружено для симплексов из *B. coli* и *Sh. sonnei*. Защитная активность этих симплексов возрастает параллельно с их концентрацией.

3. Степень активности симплекса из *B. coli* употребленного в концентрации 0,08% соответствует приблизительно активности симплекса из *Sh. sonnei* взятого в концентрации 0,15%.

4. Симплексы же из *S. paratyphi B* и *P. vulgaris* проявляют одинаковую, очень слабую защитную активность.

5. Разницы защитного действия исследованных симплексов связаны повидимому с их химической структурой.

6. Установлены большие разницы в степени приобретения устойчивости против пенициллина со стороны различных штаммов золотистого стафилококка под влиянием защитного действия симплексов.

B. Zabłocki and *M. Rolicka*

THE INFLUENCE OF LIPOID-POLYSACCHARIDE-PROTEIN COMPLEX ON THE SUSCEPTIBILITY OF STAPHYLOCOCCI TO PENICILLIN

Summary

The lipoid-polysaccharide-protein complexes isolated from four species of Gram-negative bacteria influenced in various degrees the sensitiveness to penicillin of 20 tested strains of *Staphylococcus aureus*. In the presence of the complexes tested strains were distinctly less sensitive to the antibiotic.

The most marked action was observed with complexes obtained from *Escherichia coli* and *Shigella sonnei* cells. The protective influence of the complexes was correlated to their concentration.

The protective value of the *Salmonella paratyphi B* and *Proteus vulgaris* complexes was rather small.

According to the authors opinion differencies between the activity of examined complexes are connected with their chemical structure.

It was showed that the degree of resistance to penicillin acquired by individual strains of staphylococci in the presence of the complexes changed from strain to strain.

The insusceptibility of Gram-negative bacteria to penicillin, may be, is connected with the presence of the lipoid-polysaccharide-protein complexes.

LITERATURA

1. Abraham E. A., 1949: The action of antibiotics on bacteria, *Antibiotics*, **2**: 1438.
2. Abraham E. A. i Chain E., 1940; *Nature*, **146**: 837.
3. Bartholomew J. W. i Mittwer T., 1952: The Gram Stain, *Bact. Rev.*, **16**: 1.
4. Belbamy W. D. i Klimek J. W., 1948: *J. Bact.*, **55**: 153.
5. Boivin A., 1946: Sur la constitution chimique des antigenes O des bacteries, *Ann. Inst. Pasteur*, **72**: 143.
6. Dubos R., 1945: The Bacterial Cell, Harvard Univ. Press.
7. Gale E. G. i Taylor E. S., 1947: The assimilation of amino acids by bacteria, *J. Gen. Microbiol.*, **1**: 77.
8. Kastorska T., Pasynski A., 1950: Wlijanie detergentow na czuwstwitielnost *Proteus vulg.* i *B. coli* k penicylinu, *Dokłady A. N. SSSR*, **73**: 393.

9. Mallmann W. L., Botwright W. E. i Churchill E. S., 1941: The selective bacteriostatic effect of slow oxidizing agents, *J. inf. Dis.*, **69**: 215.
10. Mikulaszek E. i Ratomski A., 1946: Dalsze badania nad budową antygenową pałeczek grupy *Salmonella*, *Med. Dośw. Społ.*, **25**: 65.
11. Packer R. A., 1943: The use of sodium azide and crystal violet in a selective medium for Streptococci, *J. Bact.* **46**: 343.
12 Partrige S. M. i Morgan W. F., 1942: An examination of the O antigenic complex, *Brit. J. exp. Pathol.*, **23**: 151.
13. Pittman M., 1944: The action of mixtures of germicides against gramnegative rods, *J. Bact.*, **47**: 427.
14. Rammelkamp T. i Maxon T., 1942: Resistance of *Staphylococcus aureus* to the action of penicillin, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **51**: 386.
15. Stearn E. W. i Stearn A. E., 1930: The nature of the gram compound and its bearing on the mechanism of staining, *J. Bact.*, **20**: 287.
16. Zabłocki B. i Morzycki J., 1935: Endotoksyna tyfusowa otrzymana metodą wielokrotnego zamrażania, *Med. Dośw. Społ.*, **19**, z. 3—4.

Acta Microbiologica Polonica Vol. IV, No 3

D. Shugar, A. Jarmolińska and *A. Feltynowski*

SOME ELECTRON MICROSCOPE OBSERVATIONS ON THERMOPHILIC BACTERIA

Państwowy Zakład Higieny w Warszawie

Received 15.V.1955

Numerous theories have been advanced to explain the ability of thermophilic microorganisms to proliferate at temperatures at which most enzymes are inactivated, many proteins denatured and the properties of numerous cell constituents such as lipids, DNA, etc. profoundly altered. It is indeed surprising how little data of an experimental nature exists in substantiation of some of these theries, a few of which are little more than speculation. Although ordinary microscopic investigations do not reveal any marked differences between these organisms and their mesophilic counterparts, we considered it nevertheless of interest to examine several strains under the electron microscope in connection with our current studies on the physico-chemical and biological characteristics of these bacteria.

EXPERIMENTAL

For this purpose we have used a number of strains (genus *Bacillus*, but otherwise unidentified, and referred to below by alphabetical letters) isolated from natural fertilizer at 65° on agar slants, which showed reasonably good growth over the temperature range 45° — 65° on a medium consisting of beef broth containing 0,5% NaCl, 1% peptone, 1% glucose and 4% agar.

All the organisms were gram-negative or gram-variable, in some cases showing 3 to 4 evenly spaced granules under the optical microscope, similar to those observed by G e o r g i, M i l i t z e r, B u r n s and H e o t i s (1951) in *Bacillus stearothermophilus* and referred to as being of general occurrence by G a u g h r a n (1947).

Following 5 to 6 hours cultivation at the appropriate temperature, a portion of the surface growth was removed and transferred to test tubes containing 3 ml water either at room temperature or at 100°. The samples heated at 100° were removed from the bath after 5 minutes and quickly cooled. In tests on the heat resistance of the flagellae, the cells were heated for 5 minutes periods at 70, 80 and 90°.

Small drops of the suspensions were deposited on 1% collodion films, air-dried and shadow-cast with chromium at an angle of 15°. A Swedish Siegbahn- Schönander microscope was used for the observations.

RESULTS AND DISCUSSION

An examination of a few (see Figs. 1—3) of the nearly 100 photographs taken shows surprisingly little, if anything, that might be used to distinguish these organisms from mesophils. There is no sign of any special protective membrane, capsule or coating such as have been postulated by various observers (Gorini 1921, Hampil 1932, Robertson 1927, see Gaughran 1947) to confer protection on the protoplasmic constituents against high temperature. There is, indeed, nothing unusual in this in view of the theoretical arguments againts the existence of such protective membranes (Virtanen, 1934, Gaughran, 1947). It should nevertheless be noted that many workers assume a special role for the spore coat in heat resistance (Lammanna, 1942).

In no instance is the cell wall of any of the organisms examined unusually thicker than those of mesophilic strains. Approximate relative measurements show a maximum thickness of the cell walls examined of about 250 — 300 Å as compared to the 230 Å reported by Mudd (1954) for *Mycobacterium tuberculosis var. avian.* The lack of significance of even this small difference is best illustrated by the fact that no variation in cell wall thickness, with temperature of cultivation, was evident for any of the strains examined.

Insofar as the structure of the cell walls themselves is concerned, no conclusions could be drawn from these observations. Independant studies on the effect of various enzymes on thermophilic bacteria (Jarmolińska a. Shugar, 1955) suggest that the chemical composition of the cell walls is, in part at least, similar to that of mesophilic strains. It would obviously be desirable to examine isolated thermophilic cell walls by the freeze-drying technique of Williams (1953).

A few points of interest appear upon examination of a single strain at several different growth temperatures, e. g. strain D at 55° and 65° (Figs. 1a and 2a). Note the smaller size of some of the cells at 65°, a phenomenon exhibited by several of the strains examined. Lammanna (1940) has called attention to an apparent decrease in size with growth temperature in the genus *Bacillus* and Allen (1953) has suggested that this may possibly explain the ability of these organisms to function at higher temperatures because of the increase in the ratio of cell surface to cell volume resulting from the decrease in size, with the resultant greater ability of metabolites to diffuse into and out of the cell. Our observations show, however, that such a phenomenon is not of general occurrence and cannot explain the thermostability of these organisms. For one, not all strains examined showed a decrease in size with increasing temperature of cultivation.

Furthermore the decrease in size evident from Figs. 1a and 2a is more

apparent than real, if we consider it in the light of Allen's suggestion. The diameter of the cylindrical cells is hardly affected, so that the resultant increase in surface area relative to cell volume is rather small. If we assume the modest value of 2 for the $Q_{10}°$ of the overall metabolic reactions of the organisms in the temperature range used here (45 — 65°), then the resultant increase in surface required at the higher temperature is about 4, which would require a decrease in the diameter of cylindrical cells of about 60%. No such decrease is, in fact, evident. On the contrary, a closer examination of Figs. 1a and 2a shows that there is actually a small increase in cell diameter. Gaughran (1947) refers to some thermophils which show an overall increase in size with increasing temperature of cultivation.

We have examined Lammanna's data and find that the difference in size with growth temperature presented by him are not statistically significant. Lammanna (1940) himself suggests, that his data are rather meagre. A more potent argument for Allen's theory is provided by the observations of Copeland (1936) on the blue-green algae, *Mocyphycae,* which inhabit hot waters.

With regard to the protoplasm itself, although some granular structure is evident in many of the photos, it does not appear to us to differ significantly from that of many mesophilic strains, nor does it correspond in general with the well-defined granules visible under the optical microscope, referred to above. An exception is the one cell visible in Fig. 2b where, following heating at 90°, with resultant loss of almost all of the protoplasm, three well-defined granules can be seen, corresponding both in size and position with those often observed by staining methods. It is possible that under more carefully controlled conditions of heating, these granules could be placed more readily in evidence. It should be noted that Mudd, Winterscheid, De Lamater a. Henderson (1951), and Mudd, Brodie, Winterscheid, Hartman, Beutner a. McLean (1951) have demonstrated the existence of well-defined electron scattering granules in various mesophilic bacteria and also present an extensive bibliography of previous observations of such granules by electron microscopy.

Figures 3a and 3b illustrate a feature observed in a number of preparations, namely the tendency od the protoplasmic structure to maintain its shape following loss of the cell wall. Salton a. Horne (1951) encountered a similar phenomenon with some mesophils, and suggested it could be due either to heat coagulation of the cell protoplasm with consequent retention of shape, or to the existence of some secondary membrane. It should, however, be noted that one of the cells in Fig. 3a, which represents an unheated preparation, also displays this phenomenon, so that it is unlikely that coagulation is involved. We are more inclined to ascribe this behaviour to the high lipid content of these organisms.

Contrary to expectations the heat resistance of the bacterial cells did not increase with temperature of cultivation, but was found in general

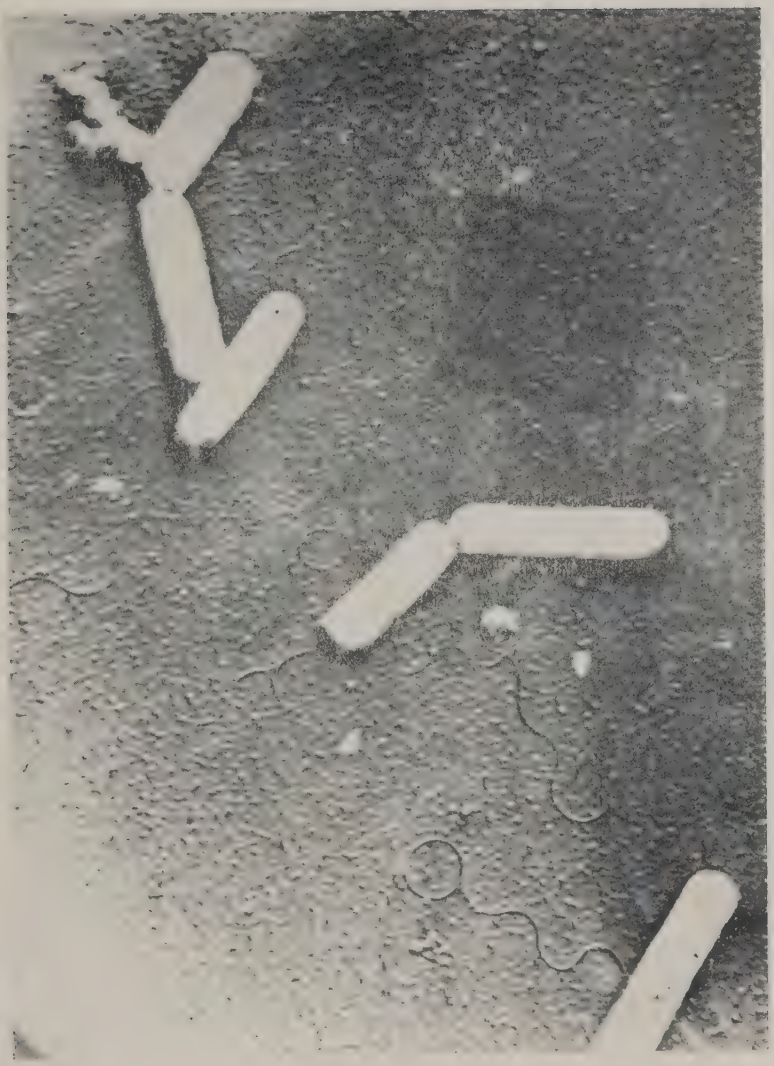
to be maximum at the optimum growth temperature, which is here taken to mean that temperature at which growth was a maximum during a 5 to 6 hour period of incubation. The heat resistance of all the strains examined was appreciably greater than that of some gram-negative mesophilic strains reported by Salton a. Horne (1951) but was not necessarily greater than that of some gram-positive species reported by the same authors. Previous results in the literature suggest the need for a more extensive study of this question. Spores of thermophilic bacteria have been found in a number of instances to be more resistant than those of mesophils (Gaughran, 1947) but Black a. Tanner (1928) report that spores of many thermophils are not exceptionally heat-resistant and that a particular strain exhibited the same heat resistance whether the organism was isolated directly from Nature or „selected" for heat resistance by isolation from previously heated sources. On the other hand, Olson, Macy a. Halvorsan (1952) were able to appreciably increase the heat resistance of *B. coli* by raising the cultivation temperature; the thermal death time of a strain cultivated at 20° was increased from 22 minutes at 140° F to 74 minutes at the same temperature when cultivated at 37°. The problem is further complicated by the fact that it may not necessarily be correct to assume that heat-resistance based on cell viability is correlated with that based on resistance to destruction of the morphological structure of the cell.

One of the strains, D, which showed increased heat resistance with increase in cultivation temperature (a correlation which is probably fortuitous, since its optimum growth temperature was between 60 and 65°) also exhibited a simultaneous increase in luxuriousness of flagellar growth. However, qualitative studies of the heat resistance of the flagellae (as estimated by visual observation of the number of flagellae seen in the scanning of an entire preparation) showed that the heat resistance of the flagellae was very little, if at all, dependant on the growth temperature. This is in agreement with the findings of Adye a. Koffler (1953) who showed that the heat stability of isolated thermophilic flagellae, while greater than that of mesophilic flagellae, was practically the same whether the organisms had been cultivated at 42 or 60°. In their experiments the flagellae were stable for 20 minutes at 70°. In our experiments 5 minutes at 70° showed practically no effect, but the same period of heating at 90° sufficed to destroy practically all the flagellae *).

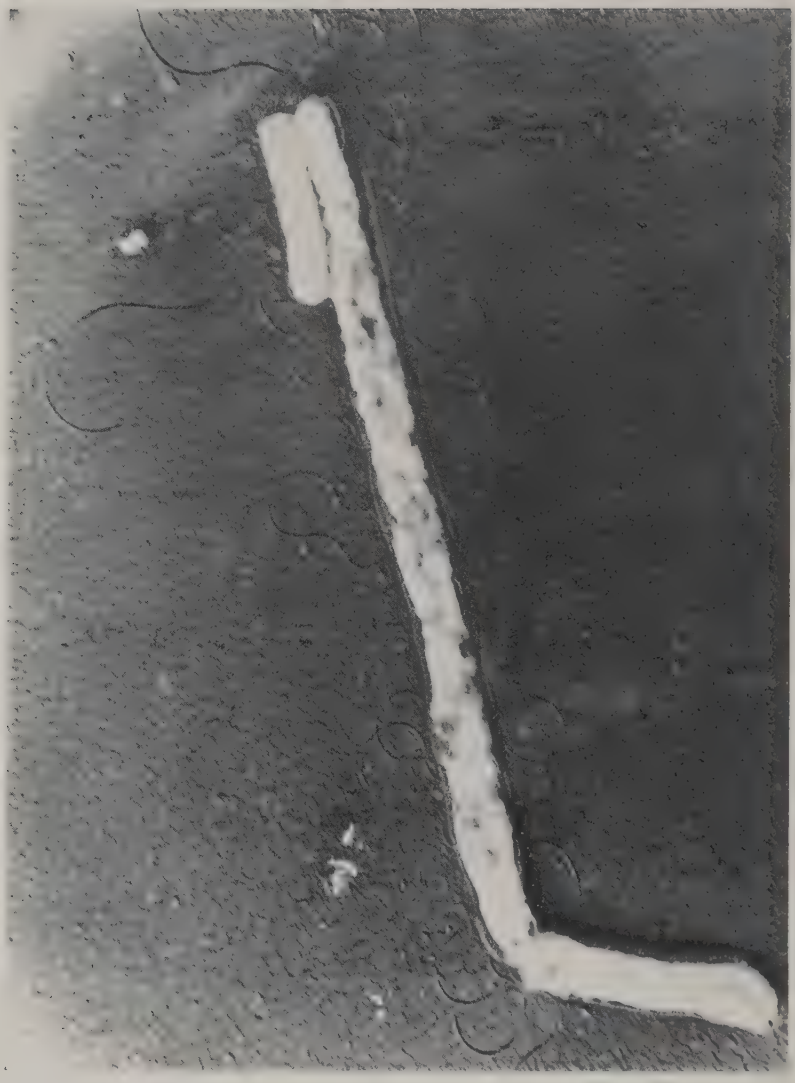
It is clear from the figures that the thickness of the flagellae does not differ from that of mesophilic bacteria. In no instance was any difference noted in length, thickness or shape of the flagellae with change in cultivation temperature.

The overall results of this brief study point rather to a similarity in gross structure between thermophils and mesophils, a fact paralleled

*) Since the completion of the above, we have isolated a gram-positive strain under conditions exactly similar to those used for the above gram-negative species. The flagellae of this strain have been found to be considerably more thermoresistant than the above.



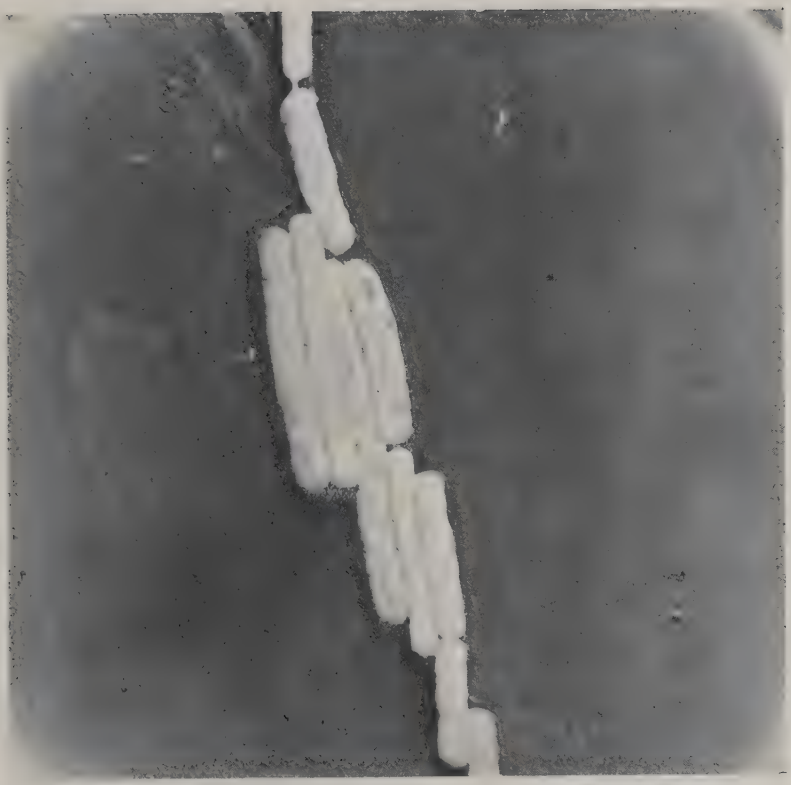
Fot. 1a. Szczep D, temperatura hodowli 65°, nieogrzewany, 14500 ×
Фот. 1а. Штамм D, температура культивирования 65°, ненагреваемый. Увел. 14500 ×.
Phot. 1a. Strain D, growth temperature — 65°, unheated. 14 500 ×.



Fot. 1b. Szczep D, temperatura hodowli 65°, ogrzewany przez 5 minut w 80°, 14500 ×

Фот. 1б. Как на фот. 1а, но нагреваемый в течение 5 минут при температуре 80°. Увел. 14500 .

Phot. 1b. Strain D, growth temperature — 65°, heated for 5 min. at 80°, 14 500 ×.



Fot. 1c. Szczep D, temperatura hodowli 65°, ogrzewany przez 5 minut w 90°, 14500 ×

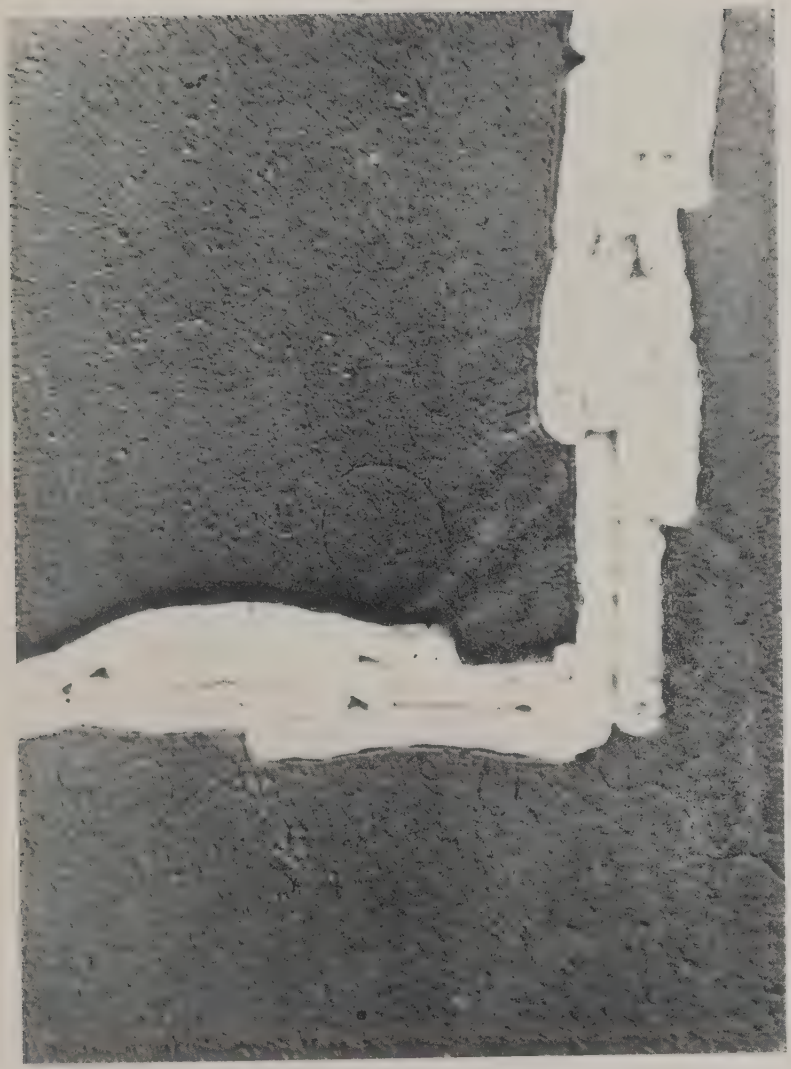
Фот. 1с. Как на фот. 1а, но нагреваемый в течение 5 минут при температуре 90°. Увел. 14500 .

Phot. 1c. Strain D, growth temperature — 65°, heated for 5 min. at 90°, 14 500 ×.

Fot. 1d. Szczep D, temperatura hodowli 65°, ogrzewany przez 5 minut w 100°, 14500 ×

Фот. 1d. Как на фот. 1а, но нагреваемый в течение 5 минут при температуре 100°. Увел. 14500 ×.

Phot. 1d. Strain D, growth temperature — 65°, heated for 5 min. at 100°, 14 500 ×.



Fot. 2a. Szczep D, temperatura inkubacji 55°, ogrzewany przez 5 minut w 80°, 14500 ×

Фот. 2a. Штамм D, температура инкубации 55°, нагреваемый в течение 5 минут при температуре 80°. Увел. 14500 ×.

Phot. 2a. Strain D, growth temperature 55°, heated for 5 min. at 80°, 14 500 ×.

Fot. 2b. Szczep D. temperatura inkubacji 55°, ogrzewany przez 5 minut w 90°, 14500 ×

Фот. 2б. Как на фот. 2а, но нагреваемый в течение 5 минут при температуре 90°. Увел. 14500 ×.

Phot. 2b. Strain D, growth temperature 55°, heated for 5 min. at 90°, 14 500 ×.

Fot. 3a. Szczep I, temperatura inkubacji 55°. nieogrzewany, 18300 ×
Фот. 3а. Штамм, I, температура инкубации 55°, ненагреваемый. Увел. 18000 ×.
Phot. 3a. Strain I, growth temperature — 55°, unheated, 18 300 ×.

Fot. 3b. Szczep I, temperatura inkubacji 55°, ogrzewany przez 5 minut w 100°, 14100 ×

Фот. 3б. Как на фот. 3а, но нагреваемый в течение 5 минут при температуре 100°. Увел. 14100 ×.

Phot. 3b. Strain I, growth temperature — 55°, heated for 5 min. at 100°, 14 100 ×.

by the similarity in biochemical reactions effected by the two types of organisms, except for the rapidity with which these reactions take place as a result of the difference in temperature of cultivation (Imszenieckі 1941, a, 1941 b; Gaughran 1947 Allen 1953, Miszustin 1950).

Postgate (1953) reports that mesophils, trained to grow at high temperatures, showed peritrichous flagellation, although the original mesophils exhibited a single polar flagellum. The heat-trained strains also formed spores, which the parent mesophils did not, so that training to thermophily in this particular case results in some alteration in morphological structure. However, the resultant structure apparently does not differ from that of other mesophils.

D. Shugar, A. Jarmolińska i *A. Feltynowski.*

OBSERWACJE W MIKROSKOPIE ELEKTRONOWYM BAKTERII TERMOFILNYCH

STRESZCZENIE

Przebadano w mikroskopie elektronowym kilka szczepów gram-ujemnych i gram-zmiennych bakterii termofilnych, hodowanych w granicach temperatur 45 — 65°.

Wyniki nie wykazują różnic w strukturze morfologicznej między tymi organizmami a bakteriami mezofilnymi. Odporność badanych bakterii na temperaturę nie zależy od temperatury hodowli, wydaje się być jednak nieznacznie większa w optymalnej temperaturze wzrostu. Odporność rzęsek na ogrzewanie także nie jest związana z temperaturą hodowli. Wyniki omówiono w związku z istniejącymi teoriami, rozpatrującymi istotę mechanizmu umożliwiającego organizmom termofilnym rozmnażanie się przy wysokich temperaturach.

Д. Шугар, А. Ярмолинска и А. Фельтыновски

НАБЛЮДЕНИЯ НАД ТЕРМОФИЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ ИССЛЕДУЕМЫМИ ПОД ЭЛЕКТРОННЫМ МИКРОСКОПОМ

Резюме

Несколько штаммов грам-отрицательных и грам-изменчивых термофильных бактерий, культивированных при температуре от 45 до 65°, было подвергнуто исследованиям под электронным микроскопом.

Полученные результаты показывают, что нет существенных разниц в морфологической структуре между упомянутыми выше микроорганизмами с одной стороны и мезофильными бактериями с другой. Устойчивость исследуемых бактерий против температуры не зависит от температуры культивирования, однако она в незначительной степени возрастает в условиях оптимальной температуры роста.

Устойчивость жгутиков против нагревания тоже не связана с температурой культивирования. Полученные авторами результаты подверглись тщательному обсуждению на фоне существующих теорий, рассматривающих сущность механизма, дающего возможность термофильным микроорганизмам размножаться при высоких температурах.

BIBLIOGRAPHY

1. Adye J. a. Koffler H., 1953: Thermal stability of flagellae from mesophilic and thermophilic bacteria. — *6 th Intern. Cong. Microbiol.*, I, 117.
2. Allen M. B., 1953: The thermophilic aerobic sporeforming bacteria. *Bact. Rev.*, **17**: 125.
3. Black L. A. a. Tanner F. W., 1928: A study of thermophilic bacteria from the intestinal tract. *Zentr. Bakt. II*, **75**: 360.
4. Copeland J. J., 1936: Yellowstone thermal *Myxophycae*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **36**: 1.
5. Gaughran E. R. L., 1947: The thermophilic microorganisms. *Bact. Rev.*, **11**: 189.
6. Georgi C. E., Militzer W., Burns W. a. Heotis J., 1951: On the existence of a cell granule in a thermophilic bacterium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **76**: 598.
7. Gorini C., 1921: Further studies on lactic acid bacteria. *Zentr. Bakt., II*, **53**: 284.
8. Hampil B., 1932: The influence of temperature on the life processes and death of bacteria. *Quart. Rev. Biol.*, **7**: 172.
9. Imszeniecki A. A., 1941 a: The influence of mesophilic and thermophilic bacteria on reaction rates. *Mikrobiologia* **10**: 385.
10. Imszeniecki A. A., 1941 b: Biochemical activities of thermophilic bacteria. *C. R. Acad. Sci. USSR*, **30**: 671.
11. Jarmolińska A. a. Shugar D., 1955: work in progress.
12. Lammanna C., 1940: Relationship between temperature growth range and size in the genus *Bacillus*. *J. Bact.*, **39**: 593.
13. Lammanna C., 1942: Relation of maximum growth temperature to resistance to heat. *J. Bact.*, **44**: 29.
14. Miszustin E. N., 1950: Thermophilic microorganisms in Nature and their applications. *Academy of Science USSR*, Moscow.
15. Mudd S., 1954: Cytology of bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.*, **8**: 1.
16. Mudd S., Winterscheid L. C., DeLamater E. D. a. Henderson H. J. 1951: Evidence suggesting that the granules of bacteria are mitochondria. *J. Bact.*, **62**: 459.
17. Mudd S., Brodie A. F., Winterscheid L. C., Hartman P. E., Beutner E. M. a. McLean R. A., 1951: Further evidence of the existence of mitochondria in bacteria., *J. Bact.*, **62**: 729.
18. Olson J. C., Macy M. a. Halvorson H. O., 1952: Thermal death time studies of coliform bacteria in milk. *Minnesota Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.*, 202.
19. Postgate J. R., 1953: Discussion — Symposium Soc. Gen. Microb., **3**: 324.
20. Robertson A. H., 1927: Thermophilic and thermoduric microorganisms with special reference to species isolated from milk, I. Review of literature — *Vermont Agr. exp. Sta. Bull.*, 274.
21. Salton M. R. J., a. Horne R. W., 1951: Studies of the bacterial cell wall — I. Electron microscope observations on heated bacteria. *Biochim. Biophys. Acta.*, **7**: 19.
22. Virtanen A.I., 1934: On the enzymes of bacteria and bacterial metabolism. *J. Bact.*, **28**: 447.
23. Williams R. C., 1953: A method of freeze-drying for electron microscopy. *Exp. Cell Res.*, **4**: 188.

Acta Microbiologica Polonica Vol. IV, No 3

J. Strzemska

ZAGADNIENIE MYKORIZY U ZBÓŻ

Cz. IV Jęczmień

Z Działu Mikrobiologii I. U. N. G. w Puławach

Wpłynęło dn. 1.III.1955 r.

WSTĘP

W poprzednich publikacjach (S t r z e m s k a, 1949, 1952, 1953) omówiono rozwój mykorizy u owsa, żyta i pszenicy. Praca niniejsza obejmująca badania nad jęczmieniem stanowi zakończenie tego wstępnego cyklu badań nad mykorizą u zbóż.

Tak jak i w pracach poprzednich celem jej było prześledzenie rozpowszechnienia i nasilenia rozwoju grzybów symbiotycznych w zależności od rodzaju i odczynu gleby. W tym celu pobrano próbki korzeni jęczmienia z pól położonych na różnych glebach: bielicy, lessie brunatnym, czarnoziemie, rędzinie, kilku gatunkach mad. Odczyn tych gleb wahał się w szerokich granicach pH od 4,5 do 8,0.

Dla uzyskania obrazu rozwoju symbiozy w ciągu okresu wegetacyjnego próbki korzeni pobierano w kilku charakterystycznych okresach: 1) w czasie krzewienia się roślin, 2) podczas kłoszenia lub kwitnienia 3) w okresie dojrzałości roślin.

Próbki korzeni jęczmienia pobierano, utrwalano i konserwowano w 1948 r. W sumie pobrano 19 próbek korzeni jęczmienia z 13 punktów. Z korzeni tych wykonano 228 trwałych preparatów mikrotomowych. Stosowano metodykę opisaną uprzednio (S t r z e m s k a, 1949, 1952, 1953).

WYNIKI BADAŃ

1. PRZEBIEG ZAKAŻENIA I ROZWÓJ GRZYBNI W KORZENIACH JĘCZMIENIA

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że zakażenie korzeni jęczmienia zachodzi przez włośniki. Bardzo rzadko zdarza się, że grzyb wnika do korzenia przez komórki epidermy nie przekształcone we włośniki. Zauważono, że w tym przypadku nitka grzybni dochodząc do komórki epidermy może tworzyć rodzaj przyssawek.

Nitki grzybni, które przedostały się do wnętrza korzenia, rozgałęziają się, przenikają z komórki do komórki i w warstwie komórek otaczających walec osiowy tworzą charakterystyczne kłębki. W tej też

warstwie komórek odbywa się trawienie grzybni, w wyniku czego kłębki grzybni zamieniają się w bezkształtną, bryłkowatą masę.

Nitki grzybni wykazują dużą rozpiętość pod względem grubości: waha się ona w granicach 1,8 — 11,1 μ. Na zakończeniach nitek powstają bardzo często kuliste utwory o wymiarach 22,2 μ — 92,5 μ × — 12,9 μ — 44,4 μ. Zarówno rozwój grzybni, jak i tych kulistych utworów obserwowano w naszych badaniach w komórkach kory pierwotnej. W żadnym ze zbadanych preparatów nie stwierdzono przenikania grzyba do walca osiowego.

Na podstawie obserwacji przeprowadzonych nad rozwojem grzybni w komórkach korzeni jęczmienia można stwierdzić, że u rośliny tej występuje typowa mykoriza wewnętrzna.

2. NASILENIE ROZWOJU MYKORIZY W ZALEŻNOŚCI OD RODZAJU GLEBY I JEJ ODCZYNU

Wyniki badań zestawione w tab. I świadczyłyby o tym, że u jęczmienia mykoriza występuje powszechnie. Nie stwierdzono różnic w rozpowszechnieniu ani nasileniu rozwoju tej symbiozy w zależności od rodzaju gleby. Nie zaobserwowano również wpływu odczynu gleby w granicach pH 4,5 — 8,0.

3. NASILENIE ROZWOJU MYKORIZY W POSZCZEGÓLNYCH CZĘŚCIACH KORZENI I ZALEŻNOŚĆ NASILENIA ROZWOJU OD WIEKU ROŚLIN

Obecność grzybów mykorizowych stwierdzono w korzeniach bocznych całej wiązki korzeniowej (tab. I, korzenie oznaczone a, b, c) oraz we wtórnych korzeniach przybyszowych (tab. I, d). Grzyby symbiotyczne rozwijają się mniej więcej równomiernie w korzeniach bocznych całego systemu. We wtórnych korzeniach przybyszowych występują o wiele rzadziej i są słabiej rozwinięte.

Tak jak i u zbóż zbadanych poprzednio grzyby symbiotyczne w korzeniach jęczmienia pojawiają się w okresie krzewienia i towarzyszą roślinie w ciągu całego okresu jej wegetacji. W ciągu całego tego okresu coraz to nowe nitki grzybni przenikają do wnętrza korzenia, gdzie rozgałęziają się i tworzą charakterystyczne kłębki. Nasilenie rozwoju mykorizy zwiększa się więc wraz z wiekiem roślin i osiąga punkt szczytowy w okresie ich dojrzałości. Trawienie grzybni przez roślinę rozpoczyna się w okresie kłoszenia i trwa do czasu dojrzałości roślin.

4. BUDOWA KORZENI A MYKORIZA

U żyta, pszenicy i owsa zaobserwowano poprzednio zupełnie wyraźną korelację pomiędzy obecnością mykorizy a kształtami korzeni. Korzenie nie zakażone przez grzyby mykorizowe odznaczały się kształtami mniej lub więcej nieregularnymi. U jęczmienia zależność ta nie jest tak uderzająca. W przeważającej ilości przypadków korzenie, które nie weszły we współżycie z grzybami symbiotycznymi, mają komórki o kształtach nieregularnych a ogólny pokrój falisty, co dobrze jest widoczne na przekroju poprzecznym. Obok nich znajdowano jednak korzenie bez mykorizy o kształtach prawidłowych, a także korzenie lekko zdeformowane, w których rozwijały się nieliczne nitki grzybni.

Tabela I

Nasilenie rozwoju mykorizy w różnych rodzajach gleb o różnym pH w kolejnych stadiach rozwojowych jęczmienia

Интенсивность развития микоризы в различных почвах с разным pH во время очередных стадий развития ячменя

The intensity of mycorrhiza formation in individual roots of barley in relation to the kind of soil, its acidity and to the age of the plants

I	II	III	IV	V	VI	VII											
						Nasilenie rozwoju mikoryzy											
						a			b			c			d		
Lp.	Miejscowość	Rodzaj gleby	pH gleby (oznaczone w KCl)	Typ zbóż	Stadium rozwojowe rośliny	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	Żerdź (pow. Puławy)	bielica	4,5 — 5,5	jare	I	○	+++	+++	○	○	++++	+++	+++	+++	○	○	++
					II	++	++	++++	++	++	++++	++	++	++++	+	++	+
					III	++++	++++	++++	++	++	+++	+	+++	++++	+++	++++	++++
	Końskowola (pow. Puławy)	less brunatny	6,0 — 7,5	jare	I	++	++	++	○	+	++++	++++	○	++	○	○	○
					II												
					III	++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	++	○	○	○
3	Garbów (pow. Puławy)	less brunatny	7,0 — 7,5	jare	III	++	++	+	○	○	++	○	+	○	++	++	○
4	Hostynne (pow. Hrubiesz).	less szaro--próchniczny, węglanowy	8,0	jare	II	+++	○	○	++	+	+++	+++	++	++	○	○	○
5	Hrubieszów	czarnoziem	8,0	jare	II	++	○	○	○	++	+++	○	+++	○	○	○	○
6	Wrzelów (pow. Puławy)	mada lekka, płytka na piasku aluwialnym	6,0 — 7,0	jare	I	++	○	○	○	++	++	○	○	○	○	○	○
					II	++	++	++	+++	++	+++	○	○	+++	○	○	○
					III	++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+++	+	○
7	Puławy (Kępa)	mada mocna	7,0	jare	I	+++	++++	++++	+++	++	++++	+++	+++	++++	○	○	○
					II												
					III	+	++	++++	++	+++	+++	++	++++	++++	++	○	○
8	Chełm (Zakł. Dośw.)	borowina	8,0	ozime	II												
					III												
	Chełm (Zakł. Dośw.)	rędzina	8,0	jare	I												
					II												

Objaśnienia:

I okres krzewienia
II „ kłoszenia lub kwitnienia
III „ dojrzałości

Oznaczenia nasilenia mykorizy:

○ brak rozwoju
\+ rozwój słaby
++ „ średni
+++ „ silny
++++ „ bardzo silny

Oznaczenia badanych korzeni:

a korzenie boczne górnej strefy wiązki korzeniowej
b „ „ środkowej strefy wiązki korzeniowej
c „ „ dolnej strefy wiązki korzeniowej
d wtórne korzenie przybyszowe
1,2 preparaty z korzeni w przekroju poprzecznym
3 „ „ „ „ „ podłużnym

5. PORÓWNANIE MYKORIZY U OWSA, ŻYTA, PSZENICY I JĘCZMIENIA

W korzeniach wszystkich badanych gatunków zbóż występuje mykoriza wewnętrzna, na rozwój której nie wpływa ani rodzaj, ani odczyn gleby. Jej rozpowszechnienie i nasilenie wzrasta wraz z wiekiem roślin. W sposobie zakażania korzeni poszczególnych zbóż zaznaczają się różnice: u owsa obserwowano przenikanie nitek grzybni wyłącznie przez włośniki, a u żyta, pszenicy i jęczmienia nitki grzybni wchodziły zarówno poprzez włośniki, jak i przez inne komórki epidermy. Do korzeni żyta nitki grzybni rzadko przedostawały się przez włośniki, a na ogół przez inne komórki epidermy nie przekształcone we włośniki. Do korzeni pszenicy i jęczmienia grzyb wnikał przeważnie przez włośniki.

Sposób infekcji, wygląd i wymiary grzybni wskazywałyby na to, że grzyby wchodzące we współżycie z żytem i pszenicą prawdopodobnie są identyczne albo też bardzo do siebie zbliżone pod względem systematycznym. Nieco do nich zbliżony jest symbiont jęczmienia, podczas gdy grzyb rozwijający się w korzeniach owsa bardzo się od nich wszystkich różni. Najczęściej znajdowano mykorizę w korzeniach jęczmienia, na drugim miejscu można pod tym względem postawić pszenicę i owies, a na trzecim żyto.

Pod względem nasilenia rozwoju grzybów symbiotycznych jęczmień zajmuje trzecie miejsce — po pszenicy i owsie. Żyto należałoby postawić na czwartym miejscu.

WNIOSKI OGÓLNE

Badania przeprowadzone nad występowaniem mykorizy u jęczmienia pozwalają stwierdzić, co następuje:

1. Rozwój grzybni w korzeniach jęczmienia ma wszelkie cechy charakteryzujące mykorizę wewnętrzną (rys. 3, 4).

2. Przenikanie nitek grzybni do wnętrza korzenia zachodzi przeważnie poprzez włośniki (rys. 1). Znacznie rzadziej grzyb przedostaje się przez komórki epidermy nie przekształcone we włośniki. Może tworzyć wówczas jak gdyby przyssawki (rys. 2).

3. Stwierdzono obecność mykorizy w korzeniach jęczmienia pochodzących ze wszystkich uwzględnionych w niniejszych badaniach rodzajów gleb o pH 4,5 — 8,0 (tab. I). Zaobserwowano przy tym, że rozpowszechnienie i nasilenie rozwoju symbiozy było niezależne od rodzaju i od odczynu gleby (tab. I).

4. Nie znaleziono ścisłej korelacji pomiędzy obecnością lub brakiem grzybów symbiotycznych w korzeniach a ich kształtem. W przeważającej większości przypadków korzenie bez mykorizy miały kształty nieregularne (rys. 5). Obserwowano jednak pod tym względem pewne wyjątki: w niektórych korzeniach o nieregularnych kształtach znajdowano nitki grzybni (rys. 6), a wśród korzeni bez mykorizy znajdowały się takie, które miały kształty prawidłowe.

5. Grzyb współżyjący z jęczmieniem jest nieco zbliżony do symbiontów żyta i pszenicy. Symbiont owsa różni się od nich wszystkich bardzo znacznie.

Rys. 1

Rys. 2

Rys. 3

Rys. 4

Rys. 1. Przenikanie nitek grzyba do korzeni jęczmienia przez włośnik.
Рис. 1. Проникновение гиф через корневые волоски.
Fig. 1. Fungus entering the root-hair of barley.

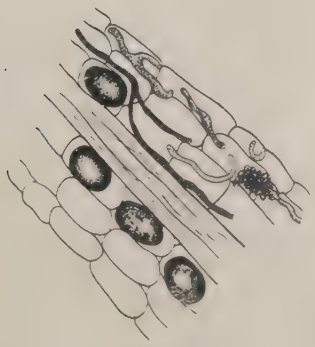
Rys. 2. Przenikanie nitek grzyba do korzeni jęczmienia przez dowolną komórkę epidermy.
Рис. 2. Проникновение гиф через клетку эпидермиса.
Fig. 2. Fungus entering the epidermis cell of the root of barley.

Rys. 3. Mykoriza jęczmienia: korzeń w przekroju poprzecznym.
Рис. 3. Микориза ячменя; поперечный разрез корня.
Fig. 3. Mycorrhiza in the root of barley: cross-section.

Rys. 4. Mykoriza jęczmienia: korzeń w przekroju podłużnym.
Рис. 4. Микориза ячменя; продольный разрез корня.
Fig. 4. Mycorrhiza in barley; longitudinal section of the root.

Rys. 5

Rys. 6



Rys. 7

Rys. 5. Korzeń jęczmienia o nieregularnych kształtach bez mykorizy.
Рис. 5. Деформация корней ячменя без микоризы.
Fig. 5. Deformed root of barley without mycorrhiza; cross-section.

Rys. 6. Korzeń jęczmienia o nieregularnych kształtach z pojedynczymi nitkami grzybni.
Рис. 6. Деформация корней ячменя с единичными гифами.
Fig. 6. Deformed root of barley with few fungal hyphae; cross-section.

Rys. 7. Pęcherzykowate utwory na końcach nitek grzybni.
Рис. 7. Пузырчатые образования на концах гиф.
Fig. 7. Terminal vesicles of mycelium in barley root.

6. Mykoriza w korzeniach jęczmienia występuje jeszcze częściej niż u innych zbóż. Nasilenie zaś rozwoju mykorizy jest u jęczmienia mniejsze niż u pszenicy i owsa, a większe niż u żyta.

LITERATURA

1. S t r z e m s k a J. 1949: Zagadnienie mikoryzy u zbóż, Cz. I. Owies. *Annales UMCS*, Lublin, S. E. **4** : 359.

2. S t r z e m s k a J. 1952: Zagadnienie mikoryzy u zbóż, Cz. II. Żyto. *Acta Microbiol. Polon.*, **1** : 24.

3. S t r z e m s k a —. 1953: Zagadnienie mikoryzy u zbóż, Cz. III. Pszenica. *Acta Microbiol. Polon.*, **2** : 4.

Całkowita literatura przedmiotu zostanie podana na innym miejscu, przy syntetycznym omówieniu całości wyników badań nad mykorizą u zbóż.

Я. Стржемска

МИКОРИЗА У ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ

ЧАСТЬ IV. ЯЧМЕНЬ

Р е з ю м е

Целью работы является определить распространение и интенсивность развития микоризы у ячменя в зависимости от рода и pH почвы. Исследованиям были подвергнуты корни ячменя, происходящие из следующих почв: подзолистый суглинок, лёссовая буроземная почва, чернозем, перегнойнокарбонатная почва (рендзина), а также несколько разновидностей аллювиальных почв (т. н. мад). pH этих почв колебалось в границах от 4,5 до 8,0. Корни ячменя были подвергнуты многократным исследованиям: 1) во время кущения растений, 2) в период колошения или цветения, 3) во время достижения зрелости. В общем итоге было взято 19 образцов корней ячменя из 13 мест. Из этих корней заготовлено 228 гистологических препаратов. В результате исследований установлено, что:

1. В корнях ячменя возникает типичная эндотрофная микориза (рис. 3 и 4).

2. Мицелиальные нити проникают внутрь корня преимущественно через корневые волоски (рис. 1). Гораздо реже переходят через другие клетки эпидермиса (рис. 2).

3. Микориза выступает во всех исследуемых видах почв с pH колеблющимся в пределах от 4,5 до 8,0 (Табл. 1). Распространение и степень симбиоза вовсе не зависит от рода и pH почвы (Табл. 1).

4. Не имеется тесной зависимости между наличием или отсутствием симбиотических грибов в корнях и формой корней (рис. 5, 6).

5. Гриб живущий в симбиозе с ячменем несколько напоминает симбионты ржи и пшеницы

6. Микориза в корнях ячменя выступает гораздо чаще, чем у других хлебных злаков. Интенсивность развития микоризы у ячменя меньше, чем у пшеницы и овса, а больше чем у ржи.

J. Strzemska

THE MYCORRHIZA OF CORN PLANT

P. IV. BARLEY

Summary

The author investigated the occurence and development of mycorrhiza in barley and its dependance on the kind and pH of soil. There were examined the roots of barley grown on following kinds of soil: podsol, loess, tchernoziom, rendzina and alluvial soils. The samples of the roots were taken in three periods of growth of the plants: 1. in the time of sprouting, 2. during flowering or formation of ears, 3. during the period of maturity.

The presence of mycorrhiza was ascertained with the help of microscopical examination of microtome-slides of 19 samples of barley roots. An endotrophic mycorrhiza was found in the roots of barley.

The fungus enter the roots by way of the root-hairs or other epidermal cells.

The intensity of the development of mycorrhiza is independant of the kind and pH of soil. The form of the cells and the shape of barley roots are not influenced by the presence of mycorrhizal fungus. The roots of barley are more often infected than the roots of other corn plants, on the other hand the intensity of mycelial growth is in barley much smaller than in wheat and oats. The fungus infecting barley roots is similar to that which was observed in the roots of rye and wheat.

J. Strzemska

WYNIKI BADAŃ NAD MYKORIZĄ U ZBÓŻ

Z Działu Mikrobiologii I. U. N. G. w Puławach

Wpłynęło dn. 30.IV.1955 r.

PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

Bliższe zainteresowanie badaczy współżyciem roślin wyższych z grzybami glebowymi datuje się od czasów Kamieńskiego (wg Jaczewski 1933, Kelley 1952, Stahl 1900, Rayner 1945) i stwierdzenia przez polskiego uczonego obecności mykorizy u *Monotropa hypopitys* (1881).

Na rośliny zbożowe zwrócono jednak pod tym względem uwagę stosunkowo niedawno i dotąd poświęcono im niewiele prac.

Pierwsze badania nad mykorizą u zbóż przeprowadził Peyronel (wg Jaczewski 1933, Kelley 1952) w latach 1917—1923. Stwierdził on obecność mykorizy wewnętrznej u żyta, pszenicy, jęczmienia i owsa, oraz opisał grzyby wchodzące w symbiozę z tymi roślinami.

Następnie Jaczewski (1933) znalazł również mykorizę u owsa.

W 1926 r. Samuel badał zboża w północnej Australii i stwierdził, że tworzą one mykorizę.

W 1936 r. ogłosił wyniki swoich badań włoski uczony Biraghi (1936). Według tego autora zboża wchodzą w symbiozę z grzybami z klasy *Phycomycetes*. Rozwijać się ona może w granicach pH gleby od 5,0 do 8,0.

Truszkowska i Paduszyńska (1952) badały zboża pochodzące z terenów U.S.R.R.Stwierdziły obecność mykorizy wewnętrznej u *Triticum vulgare, Secale cereale* i *Hordeum distichum*. Ciekawy wyjątek stanowił owies, u którego autorki mykorizy nie znalazły, chociaż jest on uznawany za roślinę mykotroficzną. O mykotrofizmie owsa świadczą między innymi ostatnio przeprowadzone badania Gieorgiu (1954). Badał on owies — *Avena sativa* i towarzyszący mu chwast — *Avena fatua*, pochodzące z różnych rejonów geograficznych z terenów ZSRR. Stwierdził obecność grzybów symbiotycznych u wszystkich badanych odmian, obserwując jednocześnie pomiędzy poszczególnymi odmianami różnice pod względem nasilenia rozwoju grzybów mykorizowych. Owsik i niektóre odmiany owsa, np. „Kiunin", mają o wiele obfitszą mykorizę niż inne odmiany. Bardzo słaby rozwój symbiozy autor stwierdził u odmian „Złoty deszcz" i „Sowiecki".

Systematyczne doświadczenia polowe nad wpływem nawożenia mineralnego i organicznego na rozwój mykorizy prowadziła Molliison-Brind (1947 — 1951). Stwierdziła ona, że pszenica wchodzi w symbiozę z grzybami z klasy *Phycomycetes*, co jest zgodne z wcześniejszymi obserwacjami Peyronela i Biraghiego. W początkowym okresie rozwoju pszenica w tych doświadczeniach była o wiele silniej zakażona grzybami mykorizowymi na poletkach nienawożonych niż na nawożonych. W późniejszym okresie rozwoju różnice te jednak zanikły.

Molliison-Brind prowadziła również doświadczenia wazonowe, w których przez zakażenie zawiesiną gleby uzyskała rośliny tworzące mykorizę. Jednakże różnic w plonie pomiędzy roślinami zakażonymi a kontrolnymi — bez mykorizy nie stwierdziła.

Winter (1953) szerzej jeszcze ujmuje problem tworzenia się mykorizy u zbóż. Uczony ten podaje szczegółowy opis morfologiczny mykorizy u roślin zbożowych oraz wyniki swoich obserwacji nad wpływem różnych czynników ekologicznych na tworzenie się tej symbiozy. Nie stwierdza wyraźnej zależności rozpowszechnienia mykorizy od rodzaju gleby. Z badań Wintera wynika również, że zasobność gleby w próchnicę i składniki pokarmowe odgrywa małą rolę. Autor ten obserwował silny rozwój mykorizy u zbóż w warunkach prymitywnej uprawy, a więc na nowinach, na polach zachwaszczonych, na bardziej zaniedbanych krańcach pól, wreszcie przy powtarzaniu się tej samej rośliny na tym samym polu, np. pszenicy po pszenicy. Przy porównywaniu wzrostu i rozwoju roślin okazało się, że rośliny z mykorizą nie rozwijały się lepiej, a przeważnie nawet gorzej od roślin, które nie tworzyły symbiozy z grzybami.

Winter wyprowadza swoje wnioski na podstawie przebadania dużego materiału roślinnego. Jednakże, jak wynika z treści pracy, jest zwolennikiem poglądu, że rośliny odżywiają się wyłącznie autotroficznie i pogląd ten stara się udowodnić. Według Wintera dowodem tego jest między innymi stwierdzona zdolność roślin do pobierania penicyliny i streptomycyny, a więc wielkich molekuł, które następnie można wykryć w stanie niezmienionym w ich organizmach. Fakt łatwego wykrywania pobranych i nieprzetworzonych molekuł penicyliny lub streptomycyny przemawiałby jednak za tym, że roślina po prostu ich nie przyswaja.

W ostatecznych wnioskach w swojej pracy Winter wyraża pogląd, że współżycie z grzybami mykorizowymi nie przynosi roślinom wyraźnej korzyści, ale też nie jest szkodliwe.

Do wprost przeciwnych wniosków dochodzi w swej pracy Kuklina-Chruszczowa (1952 a, b) na podstawie kilkuletnich badań, mających na celu ustalenie wpływu różnych zabiegów agrotechnicznych na rozwój mykorizy u pszenicy i jej oddziaływania na rośliny. Autorka ta badała wpływ przedplonów, terminów orki, nawożenia mineralnego i odmianowych właściwości pszenicy. Z obserwacji jej wynika, że późne terminy zaorywania mieszanek, kiedy gleba pod użytkiem zielonym jest zasobniejsza w substancję organiczną, są korzystniejsze dla rozwo-

ju mykorizy u pszenicy następującej po mieszance. Grzyby symbiotyczne rozwijają się wówczas powszechniej i w większym nasileniu. Zawartość substancji organicznej w glebie odgrywa szczególnie dużą rolę w początkowym okresie rozwoju grzybów mykorizowych. Substancja organiczna jest dla nich źródłem pożywienia węglowego i azotowego do momentu wejścia we współżycie z pszenicą, stymuluje ich rozwój i zwiększa przez to możliwość zakażenia korzeni roślin. Większe lub mniejsze szanse wytworzenia się symbiozy uzależnione są przecież od własności obu partnerów, a więc grzyba i rośliny. Według Kuklinyy-Chruszczowej zaznaczają się tu różnice odmianowe pszenicy.

Autorka stwierdza dodatni wpływ różnych zabiegów agrotechnicznych na rozwój mykorizy u pszenicy. Uważa, że w celu zapewnienia normalnych stosunków pomiędzy grzybem a rośliną wyższą należy stosować taki zespół zabiegów agrotechnicznych, który zwiększałby wydajność grzyba w żywieniu pszenicy. Kuklina-Chruszczowa uważa, że dla warunków, w jakich prowadzono doświadczenie, a więc dla gleb leśno-stepowych, właściwe zabiegi agrotechniczne dla pszenic jarych byłyby następujące: dobrze zestawiony użytek zielony, jak najpóźniejsze jego zaoranie, zastosowanie na wiosnę mineralnego azotu i wczesny termin wysiewu pszenicy jarej z jednoczesnym zastosowaniem w rzędy granulowanego superfosfatu.

Wyniki pracy Kuklinyy-Chruszczowej potwierdzałyby pogląd Chudiakowa (1952), który jest zdania, że tworzenie symbiozy z grzybami jest dla roślin pożyteczne, a w licznych przypadkach niezbędne i że nie można traktować mykorizy jako tworu szczątkowego.

Jak wynika z przytoczonego przeglądu piśmiennictwa, poglądy na tworzenie się mykorizy i na jej rolę w życiu roślin zbożowych są bardzo rozbieżne.

Według Wintera mykoriza u zbóż tworzy się w warunkach prymitywnych, a racjonalne zabiegi agrotechniczne przeszkadzają rozwojowi tego współżycia, które dla roślin zbożowych nie jest ani szczególnie pożyteczne, ani też szkodliwe.

Kuklina-Chruszczowa i Chudiakow są wręcz przeciwnego zdania twierdząc, że współżycie z grzybami mykorizowymi jest dla zbóż bardzo korzystne. Kuklina-Chruszczowa uważa ponadto, że można i należy drogą zabiegów agrotechnicznych wpływać na wzmożenie rozwoju mykorizy.

BADANIA WŁASNE

Przytoczony przegląd piśmiennictwa świadczy o tym, że różni badacze interesowali się tym zagadnieniem, ale wyniki ich prac są bardzo rozbieżne. W Polsce do czasu rozpoczęcia niniejszych prac (1948) nie prowadzono w ogóle badań nad mykorizą u zbóż krajowych. Dlatego też celem niniejszego cyklu badań było stwierdzenie, czy w naszych warunkach mykoriza u zbóż występuje, czy też jej brak, a w szczególności wyjaśnienie wpływu tak zasadniczych warunków środowiska, jak rodzaj gleby i jej odczyn.

Ponieważ jednorazowe zbadanie rośliny w ciągu okresu jej wegetacji może doprowadzić do mylnych wniosków na temat jej mykotrofizmu lub autotrofizmu, rośliny w czasie wegetacji badano kilkakrotnie. W ten sposób uzyskano obraz rozwoju mykorizy od początku wegetacji roślin aż do ich zbioru.

Badaniami zostały objęte cztery nasze najważniejsze zboża: żyto, pszenica, jęczmień i owies.

Obecnie ten cykl badań został zakończony i celem niniejszej publikacji jest ogólne omówienie uzyskanych wyników.

OPIS BADANEGO MATERIAŁU I METODYKA BADAŃ

Potrzebne do badań korzenie zbóż zebrano na jesieni 1947 roku i w ciągu sezonu wegetacyjnego 1948 r.

Korzenie roślin ozimych zebrano na jesieni w 1947 roku w okresie ich krzewienia, powtórnie w okresie krzewienia na wiosnę 1948 r., trzeci raz w czasie kłoszenia lub kwitnienia i po raz czwarty w okresie dojrzałości roślin.

Korzenie roślin jarych pobierano trzykrotnie: na wiosnę 1948 r. w okresie krzewienia, następnie w okresie kłoszenia lub kwitnienia i trzeci raz podczas zbiorów.

Jedynie kilka gatunków *Triticum: Tr. dicoccum, Tr. monococcum, Tr. durum, Tr. spelta* i *Tr. polonicum* zebrano w innym czasie, a mianowicie w roku 1952, traktując zbadanie ich jako dodatkowe uzupełnienie badań nad mykorizą gatunku *Triticum vulgare*.

Materiały korzeniowe po zebraniu były utrwalane i konserwowane, a następnie kolejno badane z pomocą szczegółowo opisanych metod (S t r z e m s k a 1949, 1952).

Wszystkie rośliny pochodziły z terenu Lubelszczyzny, która odznacza się dużą różnorodnością gleb. Pobierano je z pól uprawnych, położonych na glebach charakterystycznych dla danego ich rodzaju. W obrębie każdego rodzaju gleby próbki roślin pobierano zawsze z tego samego pola.

Próbki wszystkich czterech zbóż pobrano z następujących gleb: z bielicy, lessu brunatnego, czarnoziemu, rędziny i kilku różniących się między sobą mad, a żyto i owies prócz tego również z piasków słabogliniastych i gliniastych.

Odczyn gleb, z których pobrano próbki żyta i owsa, mieścił się w granicach pH 4,0 — 8,0, gleby spod jęczmienia miały pH 4,5 — 8,0, a spod pszenicy pH 6,0 — 8,0.

Z każdej próbki brano do badań korzenie boczne górnego, środkowego i dolnego odcinka wiązki korzeniowej oraz wtórne korzenie przybyszowe. Uzyskano w ten sposób obraz rozwoju mykorizy w poszczególnych partiach systemu korzeniowego. Z korzeni każdego z wymienionych odcinków sporządzono preparaty zarówno w przekroju poprzecznym jak i podłużnym.

Według tego schematu sporządzono metodą parafinową trwałe preparaty barwione, które następnie badano mikroskopowo. Preparaty barwiono według metody Stoughtona (S t r z e m s k a 1949, 1952),

która spośród przepracowanych metod podawanych w literaturze (Cohn 1929, Fries 1944, Kisser 1926, Luckie i Burges 1932, Nawaszin 1936, Suehico Icata 1934) dawała najlepsze wyniki.

Ilość zbadanych materiałów przedstawia się następująco:

Żyto:

z 17 punktów pobrano 48 próbek korzeni, z których wykonano i zbadano 576 preparatów.

Pszenica:

z 13 punktów pobrano 39 próbek korzeni, z których wykonano i zbadano 468 preparatów.

Jęczmień:

z 13 punktów pobrano 19 próbek korzeni, z których wykonano i zbadano 228 preparatów.

Owies:

z 9 punktów pobrano 20 próbek korzeni, z których wykonano i zbadano 240 preparatów.

W sumie więc dla wszystkich czterech zbóż pobrano 126 próbek korzeniowych, z których sporządzono i przebadano ponad 1500 trwałych preparatów mikrotomowych.

WYNIKI BADAŃ

Wyniki badań omówiono już szczegółowo w 4 kolejnych publikacjach (Strzemska 1949, 1952, 1953, 1955). Tu podajemy ogólne ich zestawienie uwzględniając różnice występowania mykorizy u różnych zbóż.

WYSTĘPOWANIE MYKORIZY U ROŚLIN ZBOŻOWYCH

Przeprowadzone badania wykazały, że w naszych warunkach w korzeniach żyta, pszenicy, owsa i jęczmienia rozwijają się grzyby glebowe, tworzące z tymi roślinami mykorizę wewnętrzną.

Obok nitek grzyba — symbionta obserwowano czasem w korzeniach obecność dwóch innych grzybów o charakterze pasożytniczym. Różniły się one bardzo wyraźnie budową i grubością nitek od grzyba tworzącego mykorizę. Jeden z nich miał nitki bardzo cienkie, nie barwiące się prawie wcale zastosowanymi w badaniach barwikami. Drugi wyglądem grzybni przypominał pospolitego pasożyta zbóż *Ophiobolus graminis*. Obydwa grzyby pasożytnicze rozwijały się w walcu osiowym, zwłaszcza w naczyniach.

Grzyb tworzący mykorizę skupiał się głównie w komórkach otaczających walec osiowy, tworzył tu charakterystyczne sploty, ulegał trawieniu przez komórki korzenia i nie przenikał do wnętrza walca osiowego.

PRZEBIEG ZAKAŻENIA. SYMBIONT GRZYBOWY

W sposobie zakażenia poszczególnych rodzajów zbóż zaznaczają się pewne różnice. U owsa obserwowano przenikanie grzybni wyłącznie przez włośniki, a u żyta, pszenicy i jęczmienia nitki grzybni przedostawały się do wnętrza korzeni zarówno przez włośniki, jak i przez in-

ne komórki epidermy, nie przekształcone we włośniki. U wymienionych ostatnio zbóż można jednak również stwierdzić pewne różnice w sposobie zakażenia: dla żyta można przyjąć jako regułę przenikanie grzybni nie przez włośniki, ale przez inne komórki epidermy, a w przypadku pszenicy i jęczmienia grzyb przechodził w przeważającej ilości przypadków właśnie poprzez włośniki, a tylko czasem przez nie przekształcone komórki epidermy.

Po przeniknięciu do wnętrza korzenia nitki grzybni rozgałęziają się, wędrują do komórek położonych głębiej i skupiają się w ich warstwie otaczającej walec osiowy, tworząc tam charakterystyczne sploty. W tej też warstwie ulegają trawieniu przez komórki korzenia, przy czym jądra komórkowe wyraźnie się powiększają, co świadczy o tym, że biorą one udział w procesach trawienia grzyba. W komórkach kory pierwotnej na zakończeniach nitek tworzą się często liczne pęcherzykowate wydęcia. Wypełniają one niekiedy całe wnętrze komórki. Pęcherzyki te były przypuszczalnie najczęściej puste. Niekiedy obserwowano w nich jednak obecność treści tworzącej ziarninę, która barwiła się w sposób podobny jak nitki grzybni.

Zarówno grubość nitek grzybni, jak i wielkość tworzonych przez nią pęcherzyków jest rozmaita u różnych rodzajów zbóż. Wyniki ich pomiarów zestawiono w tab. I.

Tabela I

Porównanie wymiarów grzybów symbiotycznych różnych zbóż.

Сравнение толщыны гифов симбиотических грибов хлебных злаков

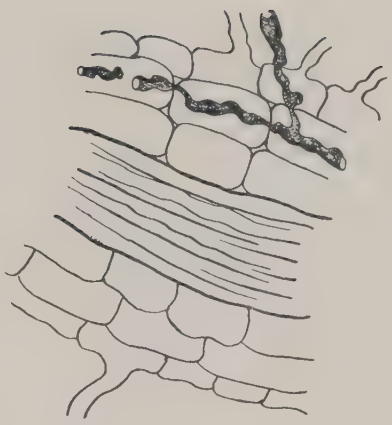
Dimension of the hyphal cells and of terminal vesicles of symbiotic fungi in the roots of various corn plants

Roślina	Grubość grzybni	Wielkość pęcherzyków
Żyto	3,7 μ — 11,1 μ	23,0 μ — 104,0 μ x 18,5 μ — 33,0 μ
Pszenica	3,7 μ — 11,1 μ	37,0 μ — 140,6 μ x 29,6 μ — 92,5 μ
Jęczmień	1,8 μ — 11,1 μ	22,2 μ — 92,5 μ x 12,9 μ — 44,4 μ
Owies	1,4 μ	29,6 μ x 22,2 μ

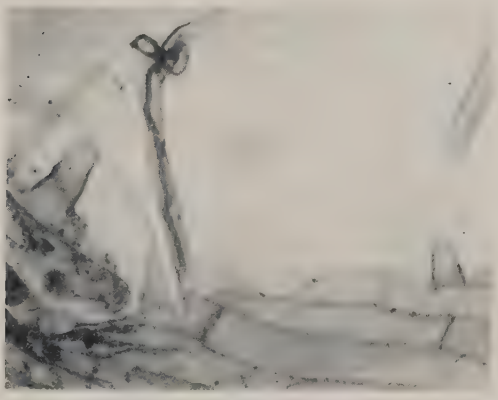
Stanowisko systematyczne grzybów wchodzących w symbiozę ze zbożami trudno jest określić jedynie na podstawie wymiarów grzybni i jej budowy. Można jednak przypuszczać, biorąc pod uwagę wymiary grzybni i tworzonych przez nią pęcherzyków, że grzyby symbiotyczne żyta i pszenicy są albo identyczne, albo bardzo zbliżone do siebie pod względem systematycznym. Grzybnia w korzeniach jęczmienia jest do nich zbliżona, a u owsa zupełnie inna (Tabela I).

W jednym preparacie z korzenia *Triticum spelta* stwierdzono ciekawy fakt owocowania grzyba w komórkach kory pierwotnej (Strzemska 1953, rys. 10).

1



2

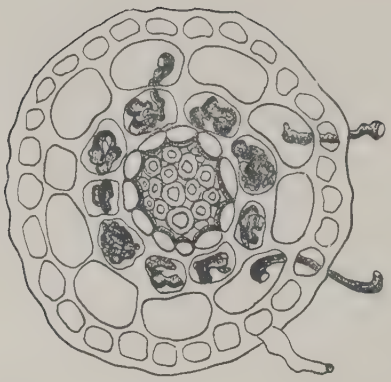


3

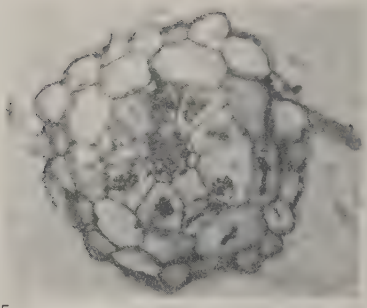
Rys. 1. Przenikanie nitek grzybni do korzeni żyta poprzez włośnik.
Рис. 1. Проникновение гиф через корневые волоски ржи.
Fig. 1. A fungus entering the root-hair of rye.

Rys. 2. Przenikanie nitek grzybni do korzeni żyta poza włośnikiem.
Рис. 2. Проникновение гиф через клетки эпидермиса ржи.
Fig. 2. A fungus entering the epidermis cell of the root of rye.

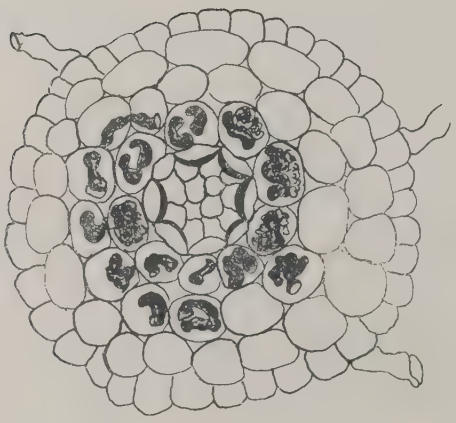
Rys. 3. Przenikanie nitki grzybni do korzeni owsa poprzez włośnik.
Рис. 3. Проникновение гиф через корневые волоски овса.
Fig. 3. Fungus entering the root-hair of oats.



4



5



6

7

Rys. 4. Mykoriza u zbóż: żyto — przekrój poprzeczny.
Рис. 4. Микориза ржи; поперечный разрез корня.
Fig. 4. Mycorrhiza in the root of rye; cross-section.

Rys. 5. Mykoriza u zbóż: owies — przekrój poprzeczny.
Рис. 5. Микориза овса; поперечный разрез корня.
Fig. 5. Mycorrhiza in oats; cross-section of the root.

Rys. 6. Mykoriza u zbóż: jęczmień — przekrój poprzeczny.
Рис. 6. Микориза ячменя; поперечный разрез корня
Fig. 6. Mycorrhiza in barley; cross-section of the root.

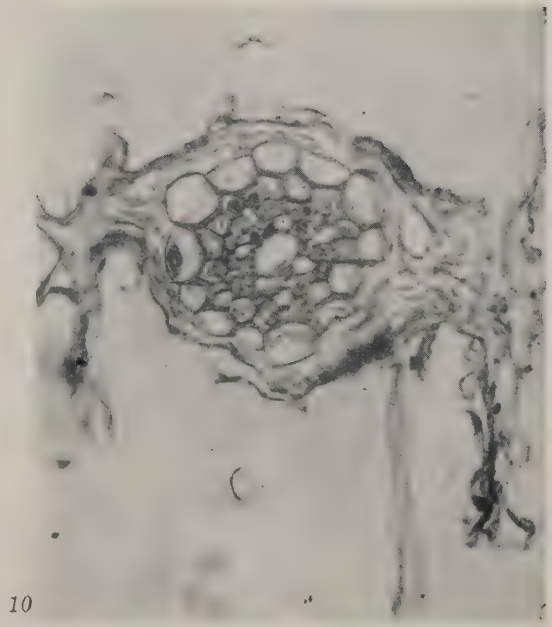
Rys. 7. Pęcherzykowate utwory w korzeniach żyta.
Рис. 7. Пузырчатые образоваания гиф в корнях ржи.
Fig. 7. Terminal vesicles of mycelium in the root-cells of rye.

8

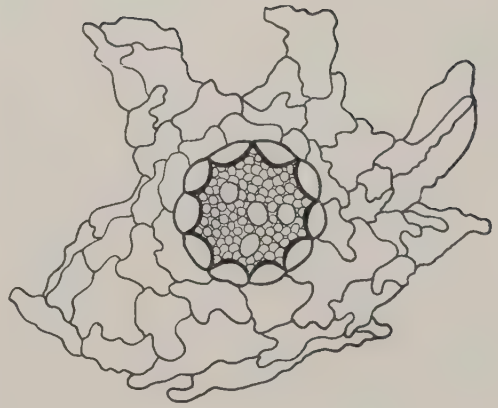
9

Rys. 8. Pęcherzykowate utwory w korzeniach owsa.
Рис. 8. Пузырчатые образования гиф в корнях овса.
Fig. 8. Terminal vesicles of mycelium in the root-cells of oats.

Rys. 9. Deformacja korzeni owsa bez mykorizy.
Рис. 9. Деформация корней овса без микоризы.
Fig. 9. Deformed root of oats without mycorrhiza; cross-section.



10



11

Rys. 10. Deformacja korzeni owsa bez mykorizy.
Рис. 10. Деформация корней овса без микоризы.
Fig. 10. Deformed root of oats without mycorrhiza; cross-section.

Rys. 11. Deformacja korzeni żyta bez mykorizy.
Рис. 11. Деформация корней ржи без микоризы.
Fig. 11. Deformed root of rye without mycorrhiza; cross-section.

Tabela II

Porównanie rozpowszechnienia i nasilenia rozwoju mykorizy u żyta, pszenicy, owsa i jęczmienia w okresie dojrzałości tych roślin w różnych rodzajach gleb o różnym pH

Сравнение распространения и степени развития микоризы хлебных злаков (рожь, пшеница, овёс, ячмень) в стадии зрелости в зависимости от рода почвы и ее кислотности

The occurence and the intensity of the development of mycorrhiza in rye, wheat, oats and barley in the period of the maturity of plants

I		II	III	IV	V	VI	VII											
							Nasilenie rozwoju mykorizy											
							a			b			c			d		
Zboże		Gatunek	Typ zboża	Miejscowość	Rodzaj gleby	pH gleby (oznaczone w KCl)	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Żyto	1	*Secale cereale*	ozime	Żerdź (pow. Puławy)	bielica	4,0 — 4,5	++	++	++	++++	○	++++	○	○	○	○	○	○
	2	,,	jare	Osiny (pow. Puławy)	szczerk lekki na glinie	4,0 — 6,0	○	++	+	○	++++	+++	++	+++	+++	○	○	++
	3	,,	ozime	Wrzelów (pow. Puławy)	mada piaszczysta średnio głęboka	5,0 — 6,0	++	+++	++++	++	++	+++	++++	+++	+++	+++	○	○
	4	,,	,,	Wrzelów (pow. Puławy)	silnie próchniczna mada piaszczysta płytka	5,0 — 6,5	○	++	○	○	○	++++	○	○	○	○	○	○
	5	,,	,,	Wrzelów (pow. Puławy)	piaszczysta mada płytka, próchniczna podmokła	5,0 — 6,5	○	○	++++	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	6	,,	,,	Wrzelów (pow. Puławy)	piaszczysta mada płytka, próchniczna podmokła	5,5 — 6,0	+	++++	++	+++	++	++	○	++++	++++	○	○	○
	7	,,	,,	Końskowola (pow. Puławy)	less	6,0 — 6,7	++	++	+++	+	++	+++	+	○	+++	+	○	+++
	8	,,	,,	Wrzelów (pow. Puławy)	mada lekka płytka, na piasku aluwialnym	6,0 — 7,0	○	○	○	○	○	○	○	○	○	++	○	○
	9	,,	,,	Puławy (Kępa)	mada mocna	6,75 — 7,0	+	○	○	○	+	○	+	++	+++	○	○	+
	10	,,	,,	Puławy (Kępa)	mada średnia płytka	6,75 — 7,0	○	○	○	+++	+++	+++	○	○	○	○	○	○
	11	,,	,,	Garbów (pow. Puławy)	less	7,0 — 7,5	○	○	○	○	○	++	++	+	++++	+	○	++
	12	,,	,,	Chełm (Zakł. Dośw.)	rędzina	8,0	○	○	○	○	○	+++	○	○	○	○	○	+
Pszenica	13	*Triticum vulgare*	,,	Wronów (pow. Puławy)	bielica średnia	6,0 — 6,2	++	++	+++	○	+	++++	+	+	++	○	+	+++
	14	,,	jare	Osiny (pow. Puławy)	bielica na glinie marglowej	6,0 — 7,0	++++	+++	++	○	++++	++++	++++	+++	++++	+++	+++	++
	15	,,	ozime	Końskowola (pow. Puławy)	less brunatny	7,0 — 7,5	+++	+++	++	○	+	++	+	++	+++	++	○	++++
	16	,,	,,	Grabów (pow. Puławy)	less brunatny	7,0 — 7,5	+	+++	○	++++	++++	++++	++++	○	++++	+	○	○
	17	,,	,,	Wrzelów (pow. Puławy)	mada lekka płytka na piasku aluwialnym	6,0 — 6,5	+++	++++	++++	++++	+	++++	+	++	++++	++	○	++++
	18	,,	,,	Puławy (Kępa)	mada średnia płytka	6,7 — 7,0	++++	++++	++++	++	++++	++++	++	++++	+++	++	○	+
	19	,,	,,	Puławy (Kępa)	mada mocna	6,7 — 7,0	++++	++++	++++	++++	+++	+++	○	○	○	○	○	○
	20	,,	jare	Chełm (Zakł. Dośw.)	rędzina	8,0	++	○	○	○	○	++	+	+++	++++	○	++	+++
	21	,,	ozime	Skorocice (woj. kielec.)	rędzina gipsowa	6,8	○	++++	+++	+	++++	++++	+++	++++	+++++	○	○	○
	22	*Triticum polonicum*	jare	Celbówek (pow. Puck)	gleba gliniasta typu brunatnego	6,5	++++	○	○	○	○	+++	++++	○	++++	○	○	○
	23	*Triticum dicoccum*	,,	,,	,,	6,5	++	+++	+++	++	++	+++	++	○	+	+	++	○
	24	*Triticum monococcum*	,,	,,	,,	6,5	++	+++	++	++	+	+++	+++	○	++	○	○	+++
	25	*Triticum spelta*	,,	,,	,,	6,5	++	++	+++	○	++	++	○	+	+	○	○	○
	26	*Tr. durum* odm. Puławska twarda	,,	,,	,,	6,5	+++	++	++++	++++	+++	+++	++	○	++	○	○	○
	27	*Tr. durum* odm. Hela	,,	,,	,,	6,5	++++	++++	○	+++	+++	++++	○	++++	++++	○	○	+
Owies	28	*Avena sativa*	,,	Osiny (pow. Puławy)	piaski głębokie	4,0 — 4,8	○	○	○	○	+++	+++	○	○	○	○	○	○
	29	,,	,,	Żerdź (pow. Puławy)	bielica lekka	5,0 — 6,3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++++	++++	++++	○
	30	,,	,,	Wrzelów (pow. Puławy)	piaszczysta mada próchniczna podmokła	5,5 — 6,5	○	○	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	++
	31	,,	,,	Puławy (Kępa)	mada mocna	7,0	++	++	++	++	++	+++	+	++	+++	+	+	++
	32	,,	,,	Garbów (pow. Puławy)	less	7,0 — 8,0	++	++	++++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++
Jęczmień	33	*Hordeum sativum*	,,	Żerdź (pow. Puławy)	bielica	4,5 — 5,5	++++	++++	++++	++	++	+++	+	+++	++++	+++	++++	++++
	34	,,	,,	Końskowola (pow. Puławy)	less brunatny	6,0 — 7,5	++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	++	○	○	○
	35	,,	,,	Garbów (pow. Puławy)	less brunatny	7,0 — 7,5	++	++	+	○	○	++	○					
	36	,,	,,	Wrzelów (pow. Puławy)	mada lekka płytka na piasku aluwialnym	6,0 — 7,0	++	+++	+++	++	++	++	++					
	37	,,	,,	Puławy (Kępa)	mada mocna	7,0	+	++	++++	++	+++	+++	++	++++	++++	++		
	38	,,	ozime	Chełm (Zakł. Dośw.)	borowina	8,0	+++	++	+++	+++	++	○						

Objaśnienia:

Oznaczenia nasilenia mykorizy:

○ brak rozwoju
\+ rozwój słaby
\+ + „ średni
\+ + + „ średni
\+ + + + „ b. silny

Oznaczenia badanych korzeni:

a korzenie boczne górnej strefy wiązki korzeniowej
b korzenie boczne środkowej strefy wiązki korzeniowej
c korzenie boczne dolnej strefy wiązki korzeniowej
d wtórne korzenie przybyszowe
1,2 preparaty z korzeni w przekroju poprzecznym
3 preparaty z korzeni w przekroju podłużnym

Na podstawie wyglądu i wymiarów grzybni można uznać go za grzyb wchodzący w symbiozę z pszenicą. Ponieważ taki obraz znaleziono tylko w jednym na ponad 1500 zbadanych preparatów z korzeni zbóż, można przypuszczać, że jest to przypadek rzadki. Zarodniki tego grzyba mają kształt kulisty, a średnica ich wynosi 3,7 μ.

ROZPOWSZECHNIENIE MYKORIZY I NASILENIE JEJ ROZWOJU U RÓŻNYCH ZBÓŻ

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że mykoriza u zbóż jest w naszych warunkach zjawiskiem pospolitym. Najczęściej znajdowano ją w korzeniach jęczmienia, nieco rzadziej u pszenicy i owsa, a najrzadziej u żyta (tabela II).

Biorąc pod uwagę nasilenie rozwoju grzybni w korzeniach zbóż, należy na pierwszym miejscu postawić pszenicę, na drugim owies, potem jęczmień, a na ostatnim żyto (tabela II).

Dla uzupełnienia badań przeprowadzonych nad mykorizą u pszenicy z gatunku *Triticum vulgare* skontrolowano dodatkowo 5 innych gatunków (*Tr. durum, Tr. monococcum, Tr. dicoccum, Tr. spelta* i *Tr. polonicum*). U wszystkich tych gatunków stwierdzono obecność mykorizy wewnętrznej. Pod względem rozpowszechnienia w nich mykorizy można je uszeregować następująco: *Tr. dicoccum,* (największe rozpowszechnienie), a następnie w kolejności malejącego rozpowszechnienia — *Tr. vulgare, Tr. monococcum, Tr. durum, Tr. spelta, Tr. polonicum* (tabela II).

Pod względem obfitości rozwoju grzybni na pierwsze miejsce wysuwa się *Tr. durum* odm. Hela (Tabela II).

WPŁYW RODZAJU I ODCZYNU GLEBY

Następnym zadaniem postawionym w założeniu pracy było zbadanie wpływu rodzaju gleby i jej odczynu na rozpowszechnienie i nasilenie rozwoju mykorizy.

Wyniki badań przeprowadzonych nad zbożami z gleb różniących się między sobą tak, jak szczerk, czarnoziem, less, mada, czy rędzina, świadczą o tym, że rodzaj gleby nie wywierał żadnego wpływu ani na nasilenie, ani na rozpowszechnienie rozwoju grzybów symbiotycznych w korzeniach zbóż (Tabela II).

Poglądy różnych autorów na zależność rozwoju mykorizy od odczynu gleby są rozbieżne. Większość badaczy zajmujących się tym zagadnieniem za optymalny uważa odczyn kwaśny, to jest pH 4,0 — — 5,0 — 6,0, a więc leżący w znanych granicach wymagań grzybów pod tym względem.

Na przykład włoski uczony B i r a g h i (wg K e l l e y 1952), badający mykorizę u zbóż, stwierdził, że występuje ona w granicach pH 5,0 — 8,0.

W niniejszych badaniach stwierdzono, że mykoriza u zbóż rozwija się przy pH nawet w granicach 4,0 — 8,0 i nie zaobserwowano żadnego wpływu odczynu gleby ani na rozpowszechnienie, ani też na nasilenie rozwoju tej symbiozy (Tabela II).

c z o w a posuwa się najdalej w ocenie tego zjawiska jako korzystnego dla roślin. Przytacza ona dane ze swoich badań, świadczące o dodatnim wpływie mykorizy na plon roślin. Według tej autorki rolnik może wpływać na silniejszy rozwój tej symbiozy, a przez to polepszać plonowanie zbóż.

WNIOSKI OGÓLNE

Badania przeprowadzone nad mykorizą owsa, żyta, pszenicy i jęczmienia wykazały, co następuje:

1. W korzeniach badanych zbóż występuje typowa mykoriza wewnętrzna (Rys. 4, 5, 6).

2. Mykoriza u zbóż jest w naszych warunkach zjawiskiem pospolitym (Tabela II). Pod względem rozpowszechnienia mykorizy pierwsze miejsce zajmuje jęczmień, drugie pszenica i owies, a trzecie żyto (Tabela II). Pod względem nasilenia rozwoju grzybni na pierwszym miejscu należy postawić pszenicę, na drugim owies, na trzecim jęczmień, i na ostatnim znowu żyto (TabelaII).

3. Na podstawie licznych badań nie stwierdzono wpływu rodzaju gleby i jej odczynu na rozpowszechnienie i nasilenie rozwoju grzybów mykorizowych w korzeniach zbóż (Tabela II).

4. Współżycie pomiędzy roślinami zbożowymi a grzybami glebowymi rozpoczyna się na wiosnę w okresie krzewienia się roślin. Tylko w nielicznych przypadkach u zbóż ozimych stwierdzono obecność mykorizy już w okresie krzewienia się ich na jesieni (S t r z e m s k a 1952, tab. I; 1953, tab. I).

5. Rozpowszechnienie i nasilenie rozwoju grzybów mykorizowych wzrasta wraz z wiekiem roślin i osiąga punkt kulminacyjny w okresie ich dojrzałości (S t r z e m s k a 1949, tab. III; 1952, tab. I; 1953 tab. I; 1955, tab. I).

6. Przenikanie nitek grzybni do korzeni odbywa się różnie u różnych roślin; u owsa obserwowano przenikanie grzybni wyłącznie przez włośniki (Rys. 3), u żyta (Rys. 1, 2), pszenicy (S t r z e m s k a 1953, Rys. 1 i 3), jęczmienia (S t r z e m s k a 1955, Rys. 1, 2) nitki grzybni przedostają się zarówno przez włośniki, jak i przez inne nie przekształcone we włośniki komórki epidermy. U żyta nitki grzybni przenikają jednak z reguły nie przez włośniki, a w przypadku pszenicy i jęczmienia grzyb przechodzi przeważnie poprzez włośniki.

7. Trawienie grzybni przez komórki korzeni rozpoczyna się już w okresie krzewienia się roślin na wiosnę i trwa przez cały okres wegetacji. Również przez cały ten czas przenikają do wnętrza korzeni coraz to nowe nitki grzybni.

8. Grzyby mykorizowe opanowują głównie korzenie boczne całej wiązki korzeniowej. U owsa najsilniej rozwijają się one w korzeniach bocznych środkowego i dolnego odcinka wiązki korzeniowej, u żyta i pszenicy w korzeniach bocznych partii środkowej, a u jęczmienia rozmieszczają się mniej więcej równomiernie w korzeniach bocznych całej wiązki korzeniowej. (S t r z e m s k a 1949, tab. II, III; 1952, tab. I; 1953, tab. I; 1955, tab. I l. c. Tab. II).

9. Przy braku symbiontów grzybowych korzenie zbóż (owsa, pszenicy, żyta) ulegają deformacjom i komórki w tych korzeniach przybierają również nieregularne kształty. Deformacje te najsilniej zaznaczają się u owsa, w nieco słabszym stopniu u żyta i pszenicy (Rys. 9, 10, 11, S t r z e m s k a 1953, rys. 5, 6 i 7). U jęczmienia zależność pomiędzy brakiem symbionta grzybowego a nieregularnością w kształcie korzeni nie jest stała (S t r z e m s k a 1955).

10. Pod względem systematycznym grzyby symbiotyczne żyta i pszenicy są albo identyczne, albo bardzo do siebie zbliżone. Symbiont grzybowy jęczmienia jest do nich podobny, a u owsa zupełnie odrębny (Tab. I).

Przedstawiony przegląd piśmiennictwa i omówione wyniki badań własnych wskazują na to, że należy prowadzić dalsze prace w celu poznania znaczenia mykorizy u zbóż.

W szczególności należałoby:

1. Poznać biologię grzybów symbiotycznych zbóż w naturalnych warunkach ich bytowania i rozwoju.

2. Wyodrębnić grzyby mykorizowe różnych zbóż i stwierdzić jak dalece występowanie ich zależy od warunków środowiska.

3. Zbadać porównawczo dynamikę rozwojową roślin zbożowych w kulturach sterylnych i zakażonych grzybami mykorizowymi.

Я. Стржемска

ИССЛЕДОВАНИЯ НАД МИКОРИЗОЙ У ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ

Резюме

Представленный автором обзор научной литературы свидетельствует о том, что взгляды различных авторов на условия возникания микоризы и ее роль в развитии хлебных злаков во многом расходятся и что вследствие этого этот вопрос требует дальнейших исследований.

В Польше до 1948 года вообще не велись исследования над микоризой хлебных злаков. Поэтому целью настоящей работы является: 1) установить, выступает ли в наших условиях микориза у хлебных злаков или она отсутствует; 2) определить влияние основных условий среды, а именно рода почвы и ее pH на распространение и степень развития микоризных грибов, 3) определить влияние возраста растений на развитие микоризы.

Исследованиям было подвергнуто четыре самых важных хлебных злаков, а именно: рожь, пшеница, ячмень и овес. Образцы корней всех четырех упомянутых растений были взяты из следующих почв: подзола, лёсса, чернозёма, рендзины и нескольких видов аллювиальных почв, а образцы корней ржи и овса из песчаных почв. pH почв, из которых были взяты образцы корней ржи и оса, колебалось в границах от 4,0 до 8,0, pH почв ячменя — в границах от 4,5 до 8,0, а pH почв пшеницы от 6,0 до 8,0. Корни озимых растений были взяты четыре раза: осенью в период кущения, второй раз весной тоже в период кущения, третий раз в период колошения или цветения и четвертый раз в период созревания растений. Корни яровых растений были взяты для исследований три раза: весной в период кущения, второй раз во время колошения или цветения и третий раз в период созревания растений.

Общие выводы

На основании исследований над микоризой овса, ржи, ячменя и пшеницы, автор пришел к следующим заключениям:

1) В корнях исследуемых хлебных злаков выступает типичная эндотрофная микориза (рис. 4, 5, 6).

2) Микориза в корнях хлебных злаков имеет характер обыкновенного явления. Относительно распространения микоризы первое место занимает ячмень, второе — пшеница и овёс, а третье — рожь. Что касается степени развития мицелия, то на первом месте следует поставить пшеницу, на втором овёс, на третьем ячмень и на последнем рожь (Табл. I). Кроме пшеницы *(Triticum vulgare)* подвергнуто исследованиям еще 5 других видов. Относительно распространения у них микоризы можно построить следующий уменьшающийся ряд: *Tr. dicoccum* (наибольшее распространение), а за нем — *Tr. vulgare, Tr. monococcum, Tr. durum, Tr. spelta, Tr. polonicum* (Табл. II).

По степени развития мицелия первое место следует признать *Tr. durum*, разновидность Hela (Табл. II).

3) Помимо многочисленных исследований не было обнаружено влияние рода почвы и ее pH на распространение и степень развития микоризных грибов в корнях хлебных злаков (Табл. I).

4) Симбиоз между хлебными злаками и почвенными грибами начинается весной в период кущения растений. Лишь в весьма немногочисленных случаях у озимых хлебных злаков обнаружено наличие микоризы уже в период их кущения осенью (Стржемска 1952, табл. I, 1953 табл. I).

5) Распространение и степень развития микоризных грибов возрастает параллельно с возрастом растений и достигает кульминационного пункта в период их зрелости (Стржемска 1949, табл. II; 1952 табл. I; 1953 табл. I; 1955 табл. I).

6) Процесс проникания нитей мицелия в корни протекает по разному у разных растений. У овса мицелий внедряется исключительно через корневые волоски, у ржи (рис. 1, 2), пшеницы и ячменя нити мицелия проникают и через корневые волоски и через другие не преобразованные в корневые волоски клетки эпидермиса. У ржи нити мицелия проникают однако, как правило, не через корневые волоски, а у пшеницы и ячменя нити мицелия проникают в огромном большинстве случаев через корневые волоски.

7) Переваривание мицелия корневыми клетками начинается уже в период кущения растений весной и продолжается в течение целого периода вегетации.

В течение всего этого времени проникают также в корни растении все новые и новые нити мицелия.

8) Микоризные грибы овладевают боковыми корнями всей корневой системы.

9) В случае отсутствия грибных симбионтов корни хлебных злаков (овса, пшеницы, ржи) подвергаются разным деформациям и клетки этих корней принимают также нерегулярную форму. Самые сильные деформации наблюдается у овса (рис. 9, 10), в несколько меньшей степени у ржи (рис. 11) и пшеницы.

У ячменя зависимость между отсутствием грибного симбионта и нерегулярностью формы корней не имеет постоянного характера.

10) В систематическом отношении грибные симбионты ржи и пшеницы, по всей вероятности, либо совсем идентичны, либо почти идентичны. Грибный симбионт ячменя похож на них, но овса совершенно иной (табл. I).

J. Strzemska

INVESTIGATIONS ON THE MYCORRHIZA IN CORN PLANTS

Summary

The mycorrhiza in corn plants in Poland was not studied till the year 1948 when the author's researches on this problem were undertaken. The aim of this study was to examine the occurence and the intensity of the development of mycorrhiza in the roots of corn plants and its dependance on the age of the plants, on the kind and pH of soils.

In this respect four corn plants: wheat, rye, oats and barley were examined. The methodes of taking the root-samples, of staining and examination are given in previous publications (S t r z e m s k a 1949, 1952).

The endotrophic mycorrhiza was found in roots of all examined corn plants (Fig. 4, 5, 6). It was more often present in roots of barley than in roots of wheat and oats; the mycorrhiza in rye was rather rare. The fungal growth was most pronounced in the roots of wheat, less aboundant in roots of oats and barley. (Tab. II).

There was no relationship between the intensity of mycorrhiza development and the kind and pH of soil (Tab. III).

The root infection take place in spring time during the period of sprouting of plants. The infection of young winter-plants during autumn was noted only exceptionally. (S t r z e m s k a 1952, Tab. I, 1953, Tab. I).

The intensity of the development of mycorrhiza was correlated with the age of examined corn plants (S t r z e m s k a 1949, Tab. II, 1952 — Tab. I, 1953 — Tab. I, 1955 — Tab. I).

The fungus enter the roots of oats exclusively through the root-hairs (Fig. 3), in other tested corn plants the fungus enter as well the root-hairs as other epidermal cells (Fig. 1, 2).

Digestion of the mycelium in the root-cells was evident allready during the period of sprouting of plants. The desintegration of mycelial hyphae and entering of new hyphae in root cells was observed during the whole period of plants growth, till their full maturity.

The development of mycorrhiza was observed in the lateral roots of the whole root system.

When the symbiotical fungi are lacking the roots of wheat, oats and rye are being deformed and the root cells have irregular shapes. This deformation was most pronounced in oats (Fig. 9, 10), less marked in rye (Fig. 11) and in wheat. In barley no correlation between the infection of the roots and their form could be noted.

The symbiotic fungi infecting rye and wheat are morphologically almost identical. The fungus entering the roots of barley is very similar. On the other hand the fungus in the roots of oats differs greatly from the symbionts of other corn plants (Tab. I).

LITERATURA

1. B i r a g h i A., 1936: Ricerche sulla microflora radicola del grano. *Boll. R. Staz. Patol. Veg. Roma* (cyt. wg K e l l e y A. 1952).
2. C h u d i a k o w J. P., 1952: Rol mikoriznych gribow w pitanii mikotrofnych rastienij. Rol mikroorganizmow w pitanii rastienij (praca zbiorowa), Sielchozgiz, Moskwa.

3. Cohn H. J., 1929: Biological stains, Geneva N. Y. U. S. A.
4. Dorochowa N. A., 1948: O mikotrofnom pitanii pszenic. *Dokł. Mosk. Sielchoz. Ak. im. Timiriaziewa*, **7**: 24.
5. Fries N., 1944: Beobachtungen über die thamniscophage Mycrorrhiza einiger Halophyten. Botaniska Notiser, Lund.
6. Gieorgiu N. A., 1954: O mikotrofnom pitanii owsow. *Agrobiołogia*, **4**: 122.
7. Harley J. L., 1952: Associations between Microorganisms and Higher Plants (Micorrhiza), *Ann. Rev. Michrobiol.*, **6**.
8. Jaczewski A. A., 1933: Osnowy mikołogii. Gos. izd. kołch. sowch. lit. Moskwa — Leningrad.
9. Kelley A., 1952: Mikotrofia u rastienij (Mycotrophy in Plans 1950). Izd. inostrannoj litieratury, Moskwa.
10. Kisser J., 1926: Leitfaden der Botanischen Mikrotechnik, Jena.
11. Kuklina-Chruszczowa E. P., 1952: Znaczenije mikorizy w formirowanii urożaja pszenicy. *Sow. Agron.*, **10**: 4.
12. Kuklina-Chruszczowa E. P., 1952: Znaczenije mikorizy dla rosta pszenicy. Rol mikroorganizmow w pitanii rastienij (praca zbiorowa). Sielchozgiz., Moskwa.
13. Luckie J. M. C. a. Burges A., 1932: Mycotrophism in the *Rutaceae*. I. The Mycorrhiza of *Ericstemon Crowei F. vm., Proc. Linn. Soc. S. Wales*, **57**.
14. Melin E., 1953: Physiology of mycorrhizal relation in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **4**: 325.
15. Mollison-Brind J., 1947, 1943, 1949, 1951: Mycorrhizal Associations, Rothamsted Experimental Station Harpendem Reports.
16. Nawaszin M. S., 1936: Mietodika citołogiczeskogo issliedowanija dla sielekcjonnych cielej. Sielchozgiz, Moskwa.
17. Rayner M. C., 1945: Trees and toadstools, London.
18. Samuel G., 1926: Note on the distribution of mycorrhiza. *Trans. Proc. Roy. Soc. South Australia* **1**: 245 (cyt. wg ref. *Rev. Appl. Myc.* **6**: 244, 1927).
19. Stahl E., 1900: Der Sinn den Mykorrhizabildung, Jena.
20. Strzemska J., 1949: Zagadnienie mikoryzy u zbóż. Cz. I. Owies., *Annales UMCS. S. E.* **4**: 359.
21. Strzemska J., 1952: Zagadnienie mikoryzy u zbóż. Cz. II. Żyto. *Acta Microbiol. Polon.*, **1**: 24.
22. Strzemska J., 1953: Zagadnienie mikoryzy u zbóż. Cz. III. Pszenica, *Acta Microbiol. Polon.*, **2**: 4.
23. Strzemska J., 1955: Zagadnienie mykorizy u zbóż. Cz. IV. Jęczmień. *Acta Microbiol. Polon.*, **4**: 183.
24. Suehico Icata: 1934: On the double staining method by gentiana-violet-eosin; the differential coloration of hyphae of pathogenic fungi and host tissue., *Japanese Journal of Botany*, **7**, N-os 1—2.
25. Truszkowska W. i Paduszyńska Z., 1952: Badania mykotrofizmu zbóż uprawianych w USRR, *Postępy Wiedzy Rolniczej*, **3**: 38.
26. Winter A. G., 1953: Zum Problem der Mykorrhiza bei landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. I. Die Mykorrhiza der Gramineen. *Zeitsch. Pflanzenernähr., Düngung, Bodenkunde*, **3**: 221.

I. Januszewicz

ZMIANY WŁASNOŚCI BIOCHEMICZNYCH SZCZEPU *L. MESENTEROIDES* W ZALEŻNOŚCI OD RÓŻNYCH WARUNKÓW PRZECHOWYWANIA

(Doniesienie z doświadczeń przeprowadzanych od marca 1952 r. do lutego 1955 r.)

Z Pracowni Dekstranu Głównego Instytutu Przemysłu Rolnego i Spożywczego w Warszawie

Wpłynęło dnia 4.III.1955 r.

WSTĘP

Dekstran jest polimerem kondensacyjnym o wzorze sumarycznym $(C_6H_{10}O_5)n$, zbudowanym z jednostek α-d-glikopiranozy. Główny łańcuch, posiadający wiązanie glikozydowe *1, 6*, posiada łańcuchy boczne przyłączone do głównego przez wiązanie *1, 4* (Ewans i Hibbert 1946).

Najważniejsze zastosowanie znalazł dekstran jako surowiec do produkcji środka zastępującego osocze krwi (Ewans i Hibbert 1946, Grönwall i Ingelman 1943, 1948) dzięki temu, że podstawowym składnikiem dekstranu jest glikoza, oraz dzięki odporności wiązań *1, 6* na działanie degradujące amylaz ustrojowych.

Dekstran wyizolowany bezpośrednio z hodowli bakteryjnej (przez dodanie do podłoża, na którym się prowadzi biosyntezę dekstranu, 96-procentowego alkoholu etylowego lub metylowego w stosunku 1 : 1) nazywamy dekstranem naturalnym albo surowym. Jego ciężar cząsteczkowy wynosi dziesiątki milionów.

W celu otrzymania preparatu leczniczego należy dekstran naturalny poddać hydrolizie aż do otrzymania mieszaniny wielocukrów o ciężarze cząsteczkowym 40 — 100 000 (Zakrzewski i inni 1954).

Dekstran jest wytwarzany z sacharozy przez bakterie. Zamianę sacharozy na dekstran ilustruje następująca reakcja:

$$\underset{\text{sacharoza}}{n\ (C_{12}H_{22}O_{11})} \xrightarrow{\text{enzym}} \underset{\text{dekstran}}{(C_6H_{10}O_5)_n} + \underset{\text{fruktoza}}{n\ (C_6H_{12}O_6)}$$

Enzym (lub kompleks enzymów) powodujący tę reakcję został wyosobniony i nazwany dekstranosacharazą (Hehre 1946, Koepsell i Tsuchiya 1952, Tsuchiya i inni 1952, Koepsell i inni 1953).

Pierwsze badania bakteriologiczne nad organizmami wytwarzającymi dekstran trudno jest wykorzystać ze względu na niekompletne

opisy oraz dowolnie stosowaną nomenklaturę (Cienkowski 1878, Van Tieghem 1878, Lippmann 1904, Manoyer 1937/38).

W produkcji dekstranu największe znaczenie posiadają dwa gatunki z rodzaju *Leuconostoc: L. mesenteroides* i *L. dextranicum.* Znane są dziś liczne szczepy dwu wyżej wymienionych gatunków. Wymagania pokarmowe poszczególnych szczepów są różne (Hassid i Barker 1940, Stahly i Carlson 1940, Stahly 1943, Owen Jr. i Owen 1946, Haworth i Stacey 1949, Jeans, Wilham i Miers 1948, Tsuchiya i inni 1952, Giglio i McCleskey 1953, Nadel, Randles i Stahly 1953, Mański, Skórska i Nawrocki 1953, Janusz ewicz 1953). Również wytworzony przez nie dekstran może się znacznie różnić pod względem fizyko-chemicznym (Ewans i Hibbert 1946).

W 1951 roku w Głównym Instytucie Przemysłu Rolnego i Spożywczego rozpoczęto pracę nad wyosobnieniem szczepu odpowiedniego do biosyntezy dekstranu farmaceutycznego starając się jednocześnie znaleźć optymalne warunki biosyntezy.

Z 14 wyosobnionych szczepów rodzaju *Leuconostoc* jeden tylko szczep wyosobniony ze zgęstniałej lemoniady wytwarzał dekstran, odpowiadający warunkom stawianym przez przemysł farmaceutyczny dla naturalnego (surowego) dekstranu. Szczep ten określono wg klasyfikacji Bergeya (Breed, Murray i Hitchens 1948) jako *L. mesenteroides* i oznaczono go symbolem *„L".*

W pierwszym okresie badań szczep *„L"* odznaczał się niewielką wydajnością dekstranu, około 16 — 20% w stosunku do ilości sacharozy zawartej w podłożu.

Po uaktywnieniu kultury przez przeszczepianie na odpowiednie podłoża z dodatkiem wyciągu pomidorowego i drożdżowego oraz po ustaleniu optymalnych warunków biosyntezy dekstranu otrzymano w maju 1952 r. wydajność około 35%. Zachowywano przy tym następujące warunki:

Skład podłoża podstawowego *):

KH_2PO_4	—	1 g,
$Na(NH_4)HPO_4$	—	3 g,
KCl	—	0,1 g,
$MgSO_4$	—	0,1 g,
sacharoza	—	100 g,

woda destylowana do 1000 ml.

Wyjaławiano przez 20 minut w 112°.

Autolizat drożdżowy (jałowiony przez sączenie) — 0,25 do 0,5 ml. dodano po sterylizacji podłoża.

pH pożywki — 6,7.

*) Fosforany chemicznie czyste firmy „Ksenon", KCl i $MgSO_4$ z Centrali Chemicznej, sacharoza — spożywcza.

Szczep hodowano na agarze skośnym (pożywka podstawowa + 1,5% agaru) przez trzy doby, po czym przenoszono 1 uszko ezy (o średnicy 0,5 cm) do 50 ml płynnej pożywki podstawowej, zawierającej czterokrotną ilość wyciągu drożdżowego. Osiemnastogodzinną hodowlę płynną na takim podłożu stosowano do szczepienia podłoża zasadniczego, rozlanego po 200 ml do półlitrowych kolb Erlenmeyera.

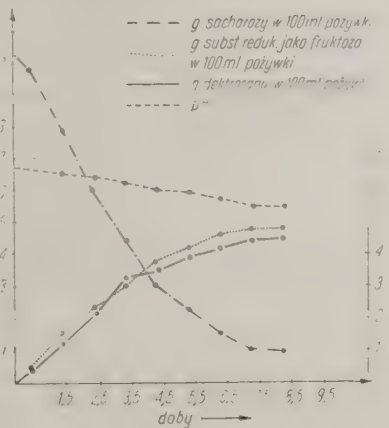
Temperatura optymalna dla biosyntezy wynosiła 20°.

Dekstran wytwarzany był tylko przy pH w granicach od 5,0 do 7,5, natomiast wzrost bakterii zachodził przy pH w granicach od 4,5 do 7,7. Wzrost bakterii określano na podstawie zmętnienia pożywki i przez obserwację barwionych praperatów mikroskopowych.

Typowy przebieg fermentacji przedstawia wykres (rys. 1).

Próby zwiększenia wydajności lub skrócenia czasu fermentacji przez dodawanie do pożywki mikroelementów nie dały pozytywnych rezultatów. Przebadano wpływ na biosyntezę dekstranu następujących jonów w dawkach od 0,00025 do 0,001 g jonu na 100 ml: Mo, Mn, Al, Fe, Sb, Cd, Zn, Co, Sn, Pb, B i Cu. Ze wszystkich badanych jonów tylko Mo, Mn, Al, Fe i Sb nie działały w stosowanych stężeniach hamująco. Miedź hamowała prawie zupełnie tworzenie dekstranu już przy dawce 0,0001% jonu Cu w podłożu.

W oparciu o badania laboratoryjne (J a n u s z e w i c z 1953), opracowano proces biosyntezy dekstranu w skali półtechnicznej (J a n u s z e w i c z i W o j c i e s z a k 1954). Otrzymywany przy pomocy tej metody dekstran jest produkowany od roku 1952 dla przemysłu farmaceutycznego.



Rys. 1. Zmiany podłoża w czasie syntezy dekstranu.

Рис. 1. Изменения среды во время синтеза декстрана.

Fig. 1. Changes in the medium during the synthesis of dextran.

Proces biosyntezy dekstranu w skali przemysłowej jest, zgodnie z danymi z literatury (M a n n o y e r 1937/38, O w e n 1948, H e h r e 1951, C h e l d e l i n, N y g a a r d, K o r n b e r g i W i l l i a m s 1951, W h i t e s i d e - C a r l s o n, R o s a n o 1951, W h i t e s i d e - C a r l s o n, C a r l s o n 1949a, 1949b), trudny do opanowania i kontrolowania z uwagi na różne zapotrzebowania szczepów bakteryjnych na czynniki odżywcze oraz z powodu względnie łatwej utraty przez *L. mesenteroides* zdolności do syntezy wielocukru.

Nawet minimalne zmiany w składzie podłoża i w warunkach hodo-

wli mogą spowodować daleko sięgające zmiany własności fizjologicznych.

W obecnych badaniach przesiewanie bakterii okazało się konieczne co 4—5 dni. Rzadsze przesiewy (co 10—12 dni) obniżały aktywność fizjologiczną szczepu, prowadząc między innymi do zwolnienia wzrostu na podłożu stałym.

Częste przesiewy mogą niekiedy spowodować przemianę cech fizjologicznych. Wiadomo jest natomiast, że największą stałość cech bakterii można zapewnić przechowując je w próżni lub w gazie obojętnym po uprzednim wysuszeniu w stanie zamrożenia.

Metoda ta znana pod nazwą liofilizacji pozwala na przechowanie drobnoustrojów z zachowaniem ich cech morfologicznych i biochemicznych (Greaves 1949, Proom i Hemmons 1949, Fennell, Raper i Flickinger 1950, Horst i Kotelba 1953, Januszewicz 1954, Kolesow 1952).

Metoda liofilizacji została zastosowana do przechowywania kultury *L. mesenteroides.*

METODYKA BADAŃ

1. LIOFILIZACJA MIKROORGANIZMÓW

Liofilizacji poddano szczep *L. mesenteroides* w okresie, gdy wytwarzał on dużo dekstranu (około 35% w stosunku do zużytej sacharozy) odpowiadającego normom ustalonym przez przemysł farmaceutyczny dla dekstranu naturalnego.

Liofilizację prowadzono w laboratoryjnym aparacie szklanym. Zawiesinę bakterii sporządzono w jałowej wodzie wodociągowej z 3-dobowej hodowli na agarze skośnym o składzie KH_2PO_4 — 0,1%, $Na(NH_4)HPO_4$ — 0,3%, KCl — 0,01%, $MgSO_4$ — 0,01%, sacharoza 10%, autolizat drożdżowy 0,1% objętościowy, agar 1,5%. (Podłoże to służyło normalnie do przeszczepiania kultury w laboratorium co 4 — 5 dni). Zawiesinę rozlewano za pomocą pipety pasteurowskiej po około 0,1 ml do przewężonych probówek (średnica probówki 7 mm, długość po przewężeniu 180 — 190 mm). Probówki z zawiesiną umieszczano natychmiast w mieszaninie mrożącej (stały CO_2 i etanol, temperatura mieszaniny około -75°) na okres około 10 minut. Przed włożeniem probówek do mieszaniny mrożącej uruchamiano urządzenie wytwarzające próżnię, składające się z pompy rotacyjnej olejowej Pfeiffera (używany olej Lux 5 C. P. N.), dającej próżnię wstępną i pompy dyfuzyjnej, rtęciowej, dwustopniowej firmy „Uran".

Po osiągnięciu próżni, wynoszącej 10 mikronów dołączano probówki z zamrożoną zawiesiną bakterii.

W czasie suszenia próżnia wynosiła na początku suszenia około 50 mikronów, pod koniec suszenia 10 mikronów. Suszenie trwało około 4 — 5 godzin. Po wysuszeniu zawiesiny zatapiano probówki pod próżnią. Szczelność zatopienia sprawdzano za pomocą aparatu wytwarzającego prąd o wielkiej częstotliwości (Radiolux). Probówki źle zatopione, nie wykazujące świecenia, odrzucano. Zatopione probówki przechowywano w temperaturze pokojowej. Celem sprawdzenia, czy w czasie procesu suszenia nie nastąpiło zabicie lub osłabienie badanego szczepu, jedną z zatopionych probówek otwierano zaraz po skończonej liofilizacji i ożywiano wysuszone bakterie.

2. ODŻYWIANIE MIKROORGANIZMÓW

Po odłamaniu zatopionego końca probówki wprowadzano pipetą pasteurowską około 0,2 ml jałowej wody destylowanej. Probówkę ponownie zatapiano (celem uniknięcia zakażenia) i pozostawiano przez 1 godzinę wstrząsając od czasu do czasu zawartość. Następnie ułamywano koniec probówki i jej zawartość przenoszono na skośny agar, służący do hodowli szczepu. We wszystkich wypadkach otrzymano wzrost na agarze po 72 godzinach, podczas gdy przy przeszczepianiu co 4 — 5 dni kultur nieliofilizowanych otrzymywano wzrost już po 24 godzinach. Kultury zliofilizowane ożywiano wtedy, gdy kultura przechowywana na podłożu agarowym wykazywała zmniejszoną wydajność dekstranu. Ożywione kultury badano w zwykły sposób, określając ich zdolność do biosyntezy dekstranu.

3. OZNACZENIA WYDAJNOSCI DEKSTRANU

Wydajność dekstranu oznaczano po 6 dobach fermentacji w następujący sposób: do kolby, w której prowadzono fermentację, wlewano około 200 ml 96% alkoholu etylowego i silnie wstrząsano. Dekstran wytrącał się w postaci gumowatej masy i opadał na dno. Po 24 godzinach dekantowano alkohol, nalewano ponownie około 200 ml alkoholu i pozostawiano na 24 godziny. Po odlaniu alkoholu kolby wstawiano do suszarki próżniowej i suszono do stałej wagi w temperaturze nie przekraczającej 50°. Z otrzymanej suchej substancji dekstranu obliczano wydajność dekstranu naturalnego w stosunku do ilości zużytej sacharozy.

4. ANALIZY PODŁOŻA FERMENTACYJNEGO

pH podłoża oznaczano pehametrem duńskim ze szklaną i kalomelową elektrodą. Substancje redukujące w przeliczeniu na fruktozę, a sacharozę po inwersji oznaczano metodą Schoorla i Regenbogena.

5. ANALIZY FIZYKO-CHEMICZNE NATURALNEGO DEKSTRANU

Przeprowadzono następujące badania z punktu widzenia przydatności dekstranu naturalnego do przerobu na dekstran-lek.

a. Stosunek wiązań glikozydowych *1,6 : 1,4* oznaczano metodą utleniania nadjodanem wg techniki Jeansa (J e a n s i W i l h a m 1950). Na podstawie tego stosunku sądzi się o przydatności dekstranu naturalnego do produkcji leku, gdyż wiązania *1,6* nie ulegają rozerwaniu przez amylazy ustrojowe.

b. Skręcalność $[\alpha] \frac{D}{20}$ dekstranu oczyszczonego przez trzykrotne rozpuszczanie w wodzie i strącanie alkoholem i nie oczyszczonego badano w polarymetrze kołowym przy użyciu lampy sodowej i rurki o długości 1 dcm. Porównanie skręcalności dekstranu nieoczyszczonego i oczyszczonego charakteryzuje zanieczyszczenie dekstranu cukrami (sacharoza, fruktoza).

c. Popiół siarczanowy (oznaczany przez spalanie dekstranu z H_2SO_4 w piecu elektrycznym w 800°) wskazuje na zanieczyszczenie naturalnego dekstranu składnikami mineralnymi.

d. Azot oznaczano w oczyszczonym dekstranie (oczyszczanie przez rozpuszczanie w wodzie i strącanie alkoholem prowadzono do zaniku reakcji na jony NH_4) metodą Kjeldahla. Ilość azotu wskazuje do pewnego stopnia na ilość komórek bakterii w naturalnym dekstranie. Przy sporządzaniu dekstranu-leku zawartość azotu nie może przekraczać pewnej granicy. Poza tym zawartość azotu w dekstranie naturalnym jest jednym z mierników prawidłowości przebiegu fermentacji.

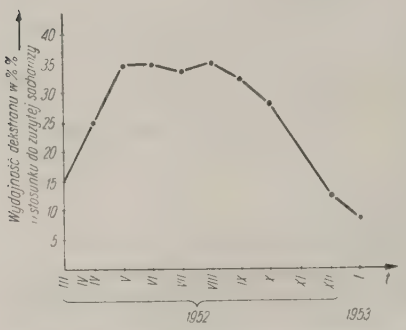
e. Lepkość względną 1% wodnego roztworu dekstranu oznaczano w aparacie Höpplera w temperaturze 25°.

f. Metale ciężkie wykrywano za pomocą prób jakościowych. Obecność metali ciężkich jest niedopuszczalna w dekstranie naturalnym.

WYNIKI

Pierwszy raz zliofilizowano kulturę w dniu 31.V.1952 r. Wydajność dekstranu przed liofilizacją wynosiła 35,6% (średnio z 3 kolb). Wydajność bezpośrednio po liofilizacji 36%.

Przedstawiając graficznie zmiany wydajności dekstranu naturalnego kultury nieliofilizowanej (średnie wydajności miesięczne) otrzymamy następujący wykres (rys. 2).



Rys. 2. Zmiany wydajności dekstranu w okresie III.1952 — I.1953 r.

Рис. 2. Изменения продуктивности декстрана с марта 1952 по январь 1953.

Fig. 2. The changes in the yield of dextran during the period Mart 1952 — January 1953.

Jak widać z wykresu, dobra wydajność utrzymywała się w ciągu około 4 miesięcy, a potem nastąpił raptowny jej spadek. Przeszczepianie bakterii na podłożu z różnymi dawkami wyciągów roślinnych (autolizat drożdżowy, wyciągi: z kiełków słodowych, z pomidorów, z buraków cukrowych, namok kukurydziany) lub z dodatkiem kwasu p-aminobenzoesowego nie wstrzymało spadku wydajności dekstranu. Nie uzyskano też wzrostu wydajności przez dodatek do podłoża mikroelementów, zmianę pH i temperatury fermentacji.

Wobec tego w końcu grudnia 1952 r. ożywiono kulturę zliofilizowaną dnia 31.V.1952 r. (przechowywaną przez 7 miesięcy). Kulturę tę nazwano literami *„La"*. Wydajność tak ożywionej kultury osiągnęła 38%.

Dnia 30.I.1953 r. zliofilizowano kulturę *„La"* i oznaczono ją jako *„Lab"*.

Kultura *„La"* odznaczała się dobrą wydajnością dekstranu (38 — 35% zarówno w laboratorium, jak i w skali półtechnicznej) przez około 3 miesiące. W kwietniu 1953 r. wydajność raptownie spadła prawie o 50%. Obniżając pH podłoża z 6,7 do 6,4 udało się znów podnieść wydajność mniej więcej do 25%. Na tym poziomie wydajność utrzymała się przez około 1,5 miesiąca, po czym spadła do około 10%. W końcu maja 1953 r. ożywiono kultury *„La"* i *„Lab"*. Kultura *„La"* (okres przechowywania 12 miesięcy) dała wydajność 21%. Kultura *„Lab"* (okres przechowywania 4 mies.) dała wydajność 22%. Przez obniżenie pH podłoża do 6,0 — 6,2 oraz użycie do podłoża zamiast wody destylowanej wody wodociągowej zwiększono wydajność dekstranu do 38%, a nawet w poszczególnych wypadkach do 45%.

Wydajność taka utrzymywała się przez okres 12 miesięcy tzn. do maja 1954 r.

W dniu 29.VII.1953 r. zliofilizowano kulturę „*Lab*" i oznaczono jako „*Labc*" (przed lofilizacją wydajność wynosiła 36%, bezpośrednio po liofilizacji próba nie została zrobiona), kulturę zliofilizowaną dnia 17.IX.1953 r. oznaczono jako „*Labd*" (przed liofilizacją wydajność wynosiła 33%, bezpośrednio po liofilizacji 36,5%).

W czerwcu 1954 r. doświadczenia laboratoryjne i w skali półtechnicznej uległy przerwie. Kulturę „*Lab*" przeszczepiano jednak nadal regularnie co 4 — 5 dni.

Próba na wydajność dekstranu wykonana w połowie lipca 1954 r. wykazała, że wydajność spadła do 20%. W sierpniu i wrześniu średnia wydajność z kilku doświadczeń wynosiła 12%. Ożywiona w sierpniu 1954 r. kultura „*Labd*" dawała wydajność około 27,5%, jednak wydajność ta ciągle spadała i doszła w październiku do 10%. W październiku ożywiono 3 kultury „*Lab*" (okres przechowywania 20 miesięcy), „*Labc*" (15 miesięcy), „*Labd*" (13 miesięcy). Najlepszą wydajność (około 20%) uzyskano stosując kultury „*Lab*" i *Labc*". Wydajność ta była jednak prawie o 50% niższa od wydajności uzyskiwanych uprzednio.

Przeprowadzono wówczas badania nad uaktywnieniem kultury oraz nad doborem podłoża najodpowiedniejszego dla biosyntezy dekstranu.

Na podstawie wielu doświadczeń z kulturą „*Labc*" wprowadzono następujące zmiany w podłożu:

1. Podstawowa pożywka agarowa do hodowli i przechowywania szczepu powinna zawierać 0,001% — $MnCl_2.4H_2O$ i 0,0005% — $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ oraz 5-ciokrotnie większą ilość autolizatu drożdżowego (tzn. 5 ml na 1 litr pożywki).

Tabela I

Wpływ zmiany składu podłoża na wydajność biosyntezy dekstranu

Влияние состава питательной среды на продуктивность биосинтеза декстрана

The yield of the dextran in relation to the composition of the medium

Nazwa szczepu	Data ożywienia	Wydajność dekstranu w stosunku do zużytej sacharozy w %%	
		podłoże podstawowe	podłoże zmodyfikow.
„*Lab*"	maj 1953 r.	8,2	7,9
„*Lab*"	październik 1954 r.	11,3	45,0
„*Labc*"	październik 1954 r.	20,0	48,0
„*Labd*"	sierpień 1954 r.	13,2	32,8
„*Labd*"	październik 1954 r.	20,0	39,5

2. Podłoże stosowane do biosyntezy dekstranu powinno zawierać 0,001% $MnCl_2.4H_2O$.

3. Optymalne pH dla biosyntezy dekstranu leży w granicach 6,5 — 6,6.

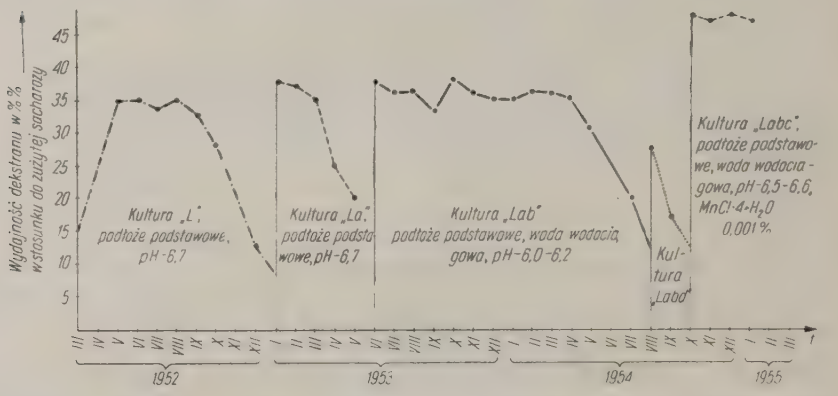
4. Do sporządzania pożywek można używać zarówno wody wodociągowej, jak i destylowanej.

Po wprowadzeniu tych zmian uzyskano następujące wyniki: (średnie wydajności z kilku doświadczeń, patrz tabl. I).

Jak widać z tabeli, kultury *„Lab"* ożywionej w maju 1953 r., nie udało się uaktywnić, natomiast pozostałe kultury podniosły swoją wydajność dwu- albo czterokrotnie. Jednak kultura *„Lab"* ożywiona w październiku i tworząca do połowy listopada dużo dekstranu (wydajność 38 — 45%) raptownie straciła swoją początkową aktywność i już w końcu listopada średnia wydajność spadła do 30%, a w połowie grudnia do 20%.

Dalsze prace laboratoryjne i półtechniczne prowadzono nad kulturą *„Labc"*, która utrzymuje swoją aktywność do chwili obecnej (luty 1955 r.).

Zależność wydajności dekstranu od rodzaju użytego klonu i podłoża w okresie od marca 1952 r. do lutego 1955 r. przedstawia wykres (rys. 3).



Rys. 3. Zmiany wydajności dekstranu w zależności od sposobu przechowywania i warunków hodowli.

Рис. 3. Изменения активности биосинтеза декстрана в зависимости от методов хранения бактериальных штаммов и от условии среды.

Fig. 3. Changes in the yield of dextran and the influence of the method of preservation of the cultures and of the kind of medium.

Jak widać z wykresu, wydajność dekstranu spada zwykle nagle i moment ten nie da się z góry przewidzieć.

Podniesienia wydajności uzyskanego przez zastosowanie do sporządzenia podłoża wody wodociągowej zamiast destylowanej nie można wytłumaczyć zmianami w składzie chemicznym wody, wykrywanymi na

podstawie analiz fizyko-chemicznych. Porównanie bowiem wyników fizyko-chemicznego badania wody wodociągowej ze Stacji Filtrów za okres od stycznia 1953 r. do lutego 1955 r. wykazuje, że skład chemiczny wody jest dość jednolity. (Wykonywano raz w tygodniu następujące oznaczenia: zawartość azotanów, azotynów, amoniaku, azotu organicznego, chlorków, żelaza, manganu, siarczanów, wolnego dwutlenku węgla, rozpuszczalnego tlenu, procent nasycenia wody tlenem, utlenialność, pH, twardość, sucha pozostałość, zapach, mętność).

Największe odchylenia od normalnego składu wody wystąpiły w zimie 1954 r. spowodowane silnymi mrozami i brakiem samooczyszczania się wody. W okresie tym, jak widać na wykresie (rys. 3), nie było prawie zupełnie wahań w wydajności dekstranu.

Spadek wydajności dekstranu od maja 1954 r. i następny wzrost wydajności pod wpływem dodatku do podłoża chlorku manganowego nie da się wytłumaczyć wahaniami zawartości manganu w wodzie, ponieważ w wodzie wodociągowej nigdy nie wykryto tego pierwiastka (analizy wykonywane przez Stację Filtrów). Zawartość żelaza od 0 do 0,3 mg w litrze wody nie może też mieć wpływu na wydajność, ponieważ nie stwierdzono, aby takie ilości żelaza miały jakikolwiek wpływ na biosyntezę dekstranu.

Na podstawie wykonanych doświadczeń przypuścić można, że woda zawiera mikroelementy nie oznaczane w laboratorium Stacji Filtrów, a silnie działające na bieg syntezy dekstranu. Bardziej prawdopodobne wydaje się jednak, że pod wpływem liofilizacji, a raczej w okresie przechowywania kultur w postaci zliofilizowanej, następują w mikroorganizmach pewne zmiany biochemiczne. Przemawia za tym konieczność wprowadzania zmian w warunkach prowadzenia procesu biosyntezy dekstranu przez kultury ożywione po pewnym okresie przechowywania w postaci zliofilizowanej. Zanik zdolności do biosyntezy dekstranu przy przeszczepianiu na podłoże sztuczne następuje niewątpliwie pod wpływem czynników zewnętrznych, których nie udało się jednak określić. Jednym z takich czynników mogą być zmiany w podłożu, zachodzące w czasie wzrostu bakterii. Ponieważ utrata zdolności do intensywnej biosyntezy dekstranu następuje często nagle, należy przypuszczać, że *L. mesenteroides* jest organizmem bardzo wrażliwym na czynniki zewnętrzne i łatwo ulega zmienności modyfikacyjnej. Duży wzrost wydajności pod wpływem zmiany pH podłoża lub pod wpływem dodatku manganu świadczy też o silnej reakcji mikroorganizmu na zmiany otoczenia. Z tego względu, mimo ustalenia dla danej kultury optymalnych warunków biosyntezy, po pewnym okresie czasu a przede wszystkim po ożywieniu kultury przechowywanej w stanie zliofilizowanym konieczne staje się zmodyfikowanie tych warunków.

Bardzo ciekawą i ważną rzeczą jest to, że kultury *L. mesenteroides* w okresach spadku aktywności względnie ożywione po liofilizacji tworzą dekstran, który odpowiada normom stawianym przez przemysł farmaceutyczny. W tabeli II podano kilka charakterystycznych wyników badań fizyko-chemicznych naturalnego dekstranu *).

*) Analizy fizyko-chemiczne wykonała mgr inż. Barbara Kaniuga.

Tabela III

Charakterystyka fizyko-chemiczna dekstranu

Физико-химические свойства декстрана

Physical and chemical characteristics of the dextran

Nazwa kultury	Wydajność dekstranu w %%	Lepkość 1% roztworu dekstranu surowego	Skręcalność właściwa		Popiół %	Azot organiczny %	Stosunek wiązań 1,6 : 1,4
			dekstran surowy	dekstran oczyszcz.			
„La"	32,9	15,66	+ 158	+ 184	1,13	0,057	7
„La"	10,5	4,11	+ 170	+ 190	1,12	0,051	4
„Lab"	31,0	7.72	+ 170	+ 182	1,07	0,059	4
„Lab"	39,5	15,59	+ 160	+ 178	0,84	0,073	5
„Lab"	10,2	13,72	+ 158	+ 190	1,21	0,048	7
„Labd"	12,4	18,77	+ 158	+ 180	1,17	0,037	4
„Labd"	33,0	13,00	+ 158	+ 190	1,10	0,027	6
„Labc"	39,4	17,33	+ 158	+ 190	1,12	0,010	7
„Labc"	49,0	11,91	+ 160	+ 184	1,32	0,012	6
Dopuszczalna wartość (norma)			nie niżej + 158	+ 178	nie wyżej 2,0	nie wyżej 0,1	niemniejszy niż 4

Lepkość względna 1% dekstranu, która wykazywała duże wahania, nie została wprowadzona do norm, ponieważ nie ustalono korelacji między lepkością a przydatnością dekstranu naturalnego do przerobu na dekstran-lek.

STRESZCZENIE

1. *Leuconostoc mesenteroides* przeszczepiany na podłoże sztuczne w warunkach laboratoryjnych zatraca zdolność do intensywnego tworzenia dekstranu (rys. 2 i rys. 3).

2. Liofilizacja zabezpiecza tylko częściowo *L. mesenteroides* pod względem stabilności jego cech biochemicznych (wymagania wzrostowe, procent wydajności dekstranu).

3. Dekstran naturalny, wytwarzany przez kultury zliofilizowane nawet takie, które utraciły zdolność do intensywnej biosyntezy, nie wykazuje różnic pod względem fizyko-chemicznym (odpowiada normom stawianym przez przemysł farmaceutyczny — Tab. II).

4. Zmiany, którym ulega *L. mesenteroides* przy przeszczepianiu na podłoża sztuczne oraz w czasie przechowywania w stanie zliofilizowanym wydają się wskazywać na kierunek występowania zmienności właściwej modyfikacyjnej (K u n i c k i - G o l d f i n g e r 1954).

И. Янушевич

ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ У ШТАММА *LEUCONOSTOC MESENTEROIDES* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ

Резюме

На основании произведенных исследований автор приходит к нижеследующим заключениям:

1. *L. mesenteroides* в лабораторных условиях теряет способность к интенсивному образовыванию декстрана (Рис. 2 и 3).

2. Лиофилизация обеспечивает лишь в незначительной степени стабильность биохимических свойств *L. mesenteroides* (рост, образовывание декстрана).

3. Натуральный декстран, образуемый *L. mesenteroides*, независимо от интенсивности биосинтеза, в физико-химическим отношении не обнаруживает никаких разниц и в полне отвечает требованиям фармацевтической промышленности (Табл. II).

4. Изменения, которым подвергается *L. mesenteroides* при пересевах на искусственную среду, а также во время хранения в лиофилизированном состаянии, кажется, указывают направление, в котором выступает подлинная модификационная изменчивость (Куницки-Гольдфингер 1954).

I. Januszewicz

THE CHANGES IN THE DEXTRAN-SYNTHESIS ABILITY OF *LEUCONOSTOC MESENTEROIDES* AND THEIR DEPENDANCE ON THE METHOD OF PRESERVATION OF THE CULTURES

Summary

The studies were conducted on the strain of *L. mesenteroides* giving good yield of dextran, suitable for pharmaceutical industry.

The cultures were stored on the agar-medium and transferred to a new slant every 4—5 days. At the same time the cultures were lyophilised and stored in the dry state in an ice-box.

The yield of the dextran diminished during the storage of the cultures. Sometimes this drop in the yield was quite sudden (Fig. 3).

The dried cultures retained the ability for synthesis of dextran to some extent but after growing on the agar-medium for some time the yield dropped.

In order to obtain permanently high yield of dextran it was indispensable to modify the medium used for the production of dextran.

The quality of dextran, as measured by its physical and chemical characteristics, did not change during the whole period of observation (Table III).

LITERATURA

1. Breed R. S., Murray E. G. D. a. Hitchens P., 1948: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Baltimore.
2. Cienkowski L., 1878: O studienistych obrazowanijach w swiekłosacharnych rastworach. Trudy obszczestwa ispytatielej prirody pri impieratorskom charkowskom uniwiersitietie, t. 12.

3. Cheldelin V. H., Nygaard A. P., Kornberg H. A. a. Williams R. J., 1951: Vitamin B_6 phosphates, growth factors for *Leuconostoc mesenteroides*. *J. Bact.*, **62** : 134.
4. Ewans T. H. a. Hibbert H., 1946: Bacterial polysaccharides. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, New York, **2** : 203.
5. Fennell D. I., Raper K. B. a. Flickinger M. H., 1950: Further investigations on the preservation of mold cultures. *Mycologia*, **42** : 135.
6. Giglio D. M. a. McCleskey C. S., 1953: Fermentation of sucrose by *Leuconostoc mesenteroides*. *J. Bact.*, **65** : 75.
7. Greaves I. N., 1949: Some recent advances in technique for drying from the frozen state. *Brit. Sci. News*, **2**: nr 18.
8. Grönwall A., Ingelman B., 1943: Blanding av polymer- homologer av partiellt depolymeriserd dextran och sätt för dess framställning., Pat. szwedzki 115, 212.
9. Grönwall A. a. Ingelman B., 1948: Manufacture of infusion and incjection fluides. Pat. U. S., 2, 437, 518.
10. Hassid W. Z. a. Barker A. H., 1940: The structure of dextran synthesized from sucrose by *Betacoccus arabinosaceus*, Orla-Jensen. *J. Biol. Chem.*, **134** : 163.
11. Haworth W. N. a. Stacey M., 1949: Improvements in and relating to the production of dextran from sucrose by means of dextranforming bacteria. *Chem. Abstr.*, **43** : 5981.
12. Hehre E. J., 1946: Studies on the enzymatic synthesis of dextran from sucrose. *J. Biol. Chem.*, **163** : 221.
13. Hehre E. J., 1951: *Advances in Enzymol.*, **11** : 297.
14. Horst M. i Kotelba R., 1953: Laboratoryjny sposób utrwalania i przechowywania szczepów bakteryjnych. *Acta Microbiol. Polon.* **2** : 142.
15. Januszewicz I., 1953: Wyosobnienie odpowiedniego szczepu *Leuconostoc mesenteroides* i opracowanie laboratoryjne warunków biosyntezy dekstranu. Główny Instytut Przemysłu Rolnego i Spożywczego. Praca nieopublikowana.
16 Januszewicz I., 1954: Liofilizacja szczepów grzyba *Aspergillus niger*. *Przem. Rolny* : 407.
17. Januszewicz I. i Wojcieszak P., 1954: Biosynteza dekstranu przy pomocy szczepu *Leuconostoc mesenteroides „L". Prace G. I. P. R. i S.* **4** : 1.
18. Jeans A. a. Wilham C. A., 1950: Periodate oxidation of dextran, *J. Am. Chem. Soc.*, **72** : 2655.
19. Jeans A., Wilham C. A., a. Miers J. C., 1948: Preparation and characterization of dextran from *Leuconostoc mesenteroides*. *J. Biol. Chem.*, **176** : 603.
20. Koepsell H. J. a. Tsuchiya H. M., 1952: Enzymatic synthesis of dextran. *J. Bact.*, **63** : 293.
21. Koepsell H. J., Tsuchiya H. M., Hellman N. N., Kazenko A., Hoffman C. A., Sharpe E. S. a. Jackson R. W., 1953: Enzymatic synthesis of dextran. *J. Biol Chem.*, **200** : 793.
22. Kolesow S. G., 1952: Wysuszywanije mikroorganizmow i biopriepara-tow, Moskwa.
23. Kunicki-Goldfinger W ł., 1954: Zmienność u bakterii, *Acta Microbiol. Polon.*, **3** : 199.

24. Lippmann E. O., 1904: Die Chemie der Zuckerarten, Braunschweig.
25. Manoyer A., 1937/38: Studies sur la gomme de sucrerie. *Sucr. Belge*, **57**.
26. Mański W., Skurska Z. i Nawrocki J., 1953: Badania nad dekstranem. Doniesienie I. Synteza dekstranu przez *Leuconostoc mesenteroides* W. 5. *Arch. Immunol. i Terapii Dośw.* **1** : 321.
27. Nadel H., Randles C. I. a. Stahly G. L., 1953: The influence of environmental factors on the molecular size of dextran. *Applied Microb.*, **1** : 217.
28. Owen W. L., 1948: The production of gum dextran, *Shugar*, **53** : 28.
29. Owen W. L. Jr. a. Owen W. L., 1946: Production of gum dextran. Pat. U. S. 2, 392, 258.
30. Proom H. a. Hemmons L. M. 1949: The drying and preservation of bacterial cultur. *J. Gen. Microb.*, **3** : 7.
31. Stahly G. L., 1943: Method of making dextran. Pat. U. S., 2, 310, 263.
32. Stahly G. L. a. Carlson W. W., 1940: Method of making ether and ester derivatives of polisacharides synthesized through bacterial action. Pat. U. S., 2, 203, 702.
33. Tsuchiya H. M., Koepsell H. J., Corman J., Bryant G., Bogard M. O., Feger V. H. a. Jackson R. W., 1952: The effect of certain cultural factors on production of dextransucrase by *Leuconostoc mesenteroides*. *J. Bact.*, **64** : 521.
34. Whiteside-Carlson V., Carlson W. W., 1949 a: Studies of the effect of paraaminobenzoic acid, folic acid, and sulfanilamide on dextran synthesis by *Leuconostoc*. *J. Bact.*, **58** : 143.
35. Whiteside-Carlson V., Carlson W. W., 1949 b: The vitamin requirement of *Leuconostoc* for dextran synthesis. *J. Bact.*, **58** : 135.
36. Whiteside-Carlson V., Rosano C. L., 1951: The nutritional requirements of *Leuconostoc dextranicum* for growth and dextran synthesis, *J. Bact.*, **62** : 583.
37. Van Tieghem P., 1878: Sur la gomme de sucrerie. *Ann. Sci Nat. Botan.* et *Biol. vegetale*, **7** : 180 wg Willinberg W., 1953: Dextran ein Veredelungsprodukt des Zuckers. *Zucker*, **6** : 33.
38 Zakrzewski K., Krysiak J., Murawski K., May Z. i Malec J., 1954: Struktura molekularna produktów hydrolizy dekstranu, *Acta Biochim. Pol.*, **1** : 27.

St. Bujak i *I. Flor*

WPŁYW ZAKAŻEŃ OBCĄ MIKROFLORĄ NA JAKOŚĆ DROŻDŻY PIEKARNIANYCH

Z Zakładu Technologii Rolnej U. M. C. S. w Lublinie

Wpłynęło dn. 6.IV.1955 r.

Drożdże piekarniane są produktem składającym się z żywych organizmów, których skład chemiczny i mikrobiologiczny w dużym stopniu zależy od warunków ich produkcji. Organizmy te po zakończonym procesie produkcyjnym w okresie przechowywania ulegają stopniowemu osłabieniu, a niektóre ich komórki nawet zamierają. Martwe komórki drożdży podlegają rozkładowi. Zjawisko to jest przyczyną obniżania się wartości technicznej drożdży piekarnianych.

Za najważniejsze cechy drożdży piekarnianych przyjmuje się w przemyśle drożdżowym ich zdolności podnoszenia ciasta, czyli ich „siłę pędną" oraz ich trwałość. Miernikiem stanu obu tych właściwości produktu jest czas w ciągu którego zachowują w temperaturze 35° konsystencję niezmienioną.

Na jakość produktu drożdżowego pod tym względem wpływają oprócz innych następujące czynniki: rasa drożdży, metoda produkcji, wiek drożdży, ich skład chemiczny oraz zanieczyszczenia obcą mikroflorą.

Na niektóre spośród wymienionych czynników można wpływać w czasie produkcji, prowadząc tak zwane „fermentacje opanowane" (E c k s t e i n, 1949). Natomiast bardzo trudno jest ustrzec drożdże od zakażeń obcą mikroflorą, która dostaje się do drożdży wraz z powietrzem wdmuchiwanym do fermentujących zacierów w czasie produkcji. Niektóre z wprowadzonych w ten sposób drobnoustrojów znajdują w zacierach sprzyjające warunki dla swego rozwoju. Wpływ obcej mikroflory na jakość wyprodukowanych drożdży piekarnianych będzie zależał od jej jakości i od jej liczebności.

Zagadnieniem tym zajmowali się u nas I w a n o w s k i i D e m b i n (1928). Badacze ci badali drożdże piekarniane, produkowane przez fabryki polskie, w zimie i na wiosnę w 1927 roku. Oznaczali oni siłę pędną i trwałość drożdży, ich skład chemiczny oraz ilości komórek drożdży kożuchujących, bakterii masłowych i bakterii octowych. Zastosowana przez nich metoda badań mikrobiologicznych pozwalała na otrzymanie danych orientacyjnych lub tylko na stwierdzenie obecności niektórych grup drobnoustrojów. Dane te często nie wystarczały do wytłumaczenia bardzo niskiej trwałości ówczesnych drożdży piekarnianych wynoszącej wg wspomnianych autorów 50 godzin.

BADANIA WŁASNE

W pracy niniejszej postawiono sobie za cel bliższe zbadanie wpływu różnych zakażeń na jakość produktu drożdżowego. Oznaczono ilości różnych grup obcej mikroflory w drożdżach piekarnianych oraz spróbowano określić wpływ tych zakażeń na siłę pędną i na trwałość drożdży.

Dla wykonania tego zadania poddano badane drożdże analizie chemicznej i mikrobiologicznej. Oznaczano równolegle ich siłę pędną i trwałość, badając je w temperaturze 35°. Drożdże badano bezpośrednio po otrzymaniu próbki z fabryki, a niektóre próbki powtórnie po 1 tygodniowym ich przechowaniu w temperaturze 10° do 14° w celu określenia zaszłych w tym czasie zmian.

ZASTOSOWANA METODYKA

W drożdżach oznaczano: zawartość suchej masy (suszenie w temperaturze 105° do stałej wagi), ogólną zawartość azotu — metodą Kjeldahla, zawartość azotu białkowego metodą Bernsteina, kwasowość metodą miareczkowania 10 g drożdży w 100 ml destylowanej wody 0,1 n NaOH wobec fenolftaleiny.

Ilościowe oznaczenia poszczególnych grup obcej mikroflory wykonano metodą posiewów zawiesiny drożdży w rozcieńczeniach od 1/10 do 1/10 milionów. Zawiesiny wysiewano na następujące pożywki: dla bakterii z grupy *coli* na pożywkę Holta, Harrisa i Teaguego w modyfikacji Leviego (P r e s c o t t, W i n s l o w i M c C r a d y 1949), dla bakterii fermentacji mlekowej wg G i l t n e r (1926), dla bakterii proteolitycznych na bulion z żelatyną (F r e d i W a k s m a n, 1928), na brzeczkę z agarem wg Jensena (J ö r g e n s e n, 1948) dla drożdży i pleśni oraz na pożywkę dla *Oospora* wg Jensena (J ö r g e n s e n, 1948).

Siłę pędną drożdży oznaczano metodą stosowaną w przemyśle drożdżowym oraz metodą Meisela, a trwałość w temperaturze 35° aż do czasu zmiany konsystencji drożdży na mazistą.

WYNIKI BADAŃ

Opisanymi metodami przebadano próbki drożdży zaraz po pobraniu ich z fabryki oraz ponownie po jednotygodniowym przechowywaniu w temperaturze 10 — 14°. Wybrano temperaturę powyższą ze względu na to, że była ona najbardziej zbliżona do temperatury pomieszczeń sklepowych. Wpływ przechowu na wartość techniczną drożdży określano na podstawie zmian ilościowych w ich składzie chemicznym i w składzie mikroflory. Określano też bezpośrednio zmiany w wartości technicznej drożdży prasowanych.

Wyniki analiz składu chemicznego badanych drożdży zebrano w tabeli I. Świeżo pobrane z fabryki próbki drożdży zawierały przeciętnie 27,56% suchej masy, co leży w granicach obowiązującej normy. W próbkach drożdży przechowywanych w ciągu tygodnia zawartość suchej masy wzrosła z 27,56% do 32,88% (patrz tabela I, kol. 1 i 3). Wzrost ten wynosił zatem średnio 20,1% w stosunku do zawartości w świeżym

produkcie i prawdopodobnie zależał od temperatury przechowu, wilgotności powietrza oraz, jak stwierdzili I w a n o w s k i i B r z e z i ń s k i (1934), od gatunku papieru użytego do opakowania cegiełek drożdży.

Azotu ogólnego w badanych drożdżach znaleziono średnio 6,44% w stosunku do suchej masy, co w przeliczeniu na substancje azotowe (6,44 × 6,25) wynosiłoby 40,26%. Wahania w ogólnej zawartości azotu były niewielkie, bo mieściły się w granicach od 6% do 7%, a tylko jedna próbka zawierała więcej niż 7% azotu W próbkach przechowywanych stwierdzono nieznaczny wzrost ogólnej zawartości azotu. Prawdopodobnie znaleziony przyrost azotu wyniknął z ubytku suchej masy, a przede wszystkim z ubytku węglowodanów. Azotu białkowego znaleziono w drożdżach świeżych średnio 5,64% a w przechowywanych nieco więcej, bo 5,76%. Różnica pomiędzy procentową zawartością ogólnej ilości azotu a procentową zawartością azotu białkowego wynosiła w świeżych drożdżach 0,77, a po ich przechowie 0,99 (patrz tabela I, rubryka 6).

Kwasowość wyrażona jako ilość ml 0,1 n NaOH, zużytego dla zobojętnienia 10 g drożdży wynosiła w drożdżach świeżych przeciętnie 2,06 ml a w drożdżach przechowywanych 2,30 ml. Jednakże przeciętna kwasowość drożdży wyprodukowanych z mieszanej kultury rasy czeskiej z rasą AS była znacznie niższa od kwasowości drożdży wyprodukowanych z kultury rasy czeskiej. Wynosiła ona 1,3 ml, co stanowiło tylko 46% przeciętnej kwasowości drożdży wyprodukowanych z kultury rasy czeskiej. W okresie tygodniowego przechowu kwasowość drożdży z mieszaniny ras (rasy czeskiej z rasą AS) obniżyła się przeciętnie do 1,2 ml (patrz tabela I, kol. 2 i 7).

Na podstawie danych składu chemicznego można uznać badane drożdże za wyrównane pod względem zawartości omawianych składników chemicznych i wnioskować z tego, że produkcja drożdży w fabryce, z której pobierano próbki, była dobrze opanowaną.

Wyniki analiz mikrobiologicznych podano w tabeli II. W żadnej z badanych próbek drożdży nie stwierdzono obecności pałeczek z grupy *coli-aerogenes*. Fakt ten świadczyłby o tym, że w powyższej fabryce warunki sanitarne były ściśle przestrzegane.

Ilość bakterii proteolitycznych wahała się od 150 do 14 000 komórek w przeliczeniu na 1,0 g suchej masy, a średnio wynosiła ca 3000 komórek. Wyższą ilość bakterii proteolitycznych stwierdzono w drożdżach przechowywanych. Przeciętnie zawierały one ca 5000 komórek w 1,0 g suchej masy drożdży (patrz tabela II, kol. 3).

Inaczej przedstawiała się sprawa z ilością bakterii mlekowych w próbkach. Bakterii tych znaleziono w drożdżach znacznie więcej niż bakterii proteolitycznych. Stwierdzono też większe wahania w ilości tej grupy mikroflory w poszczególnych próbkach. Najmniejsza ich ilość wynosiła około 2 miliony w 1 g suchej masy, największa zaś przeszło 93 miliony komórek. Ilość tych bakterii wzrosła podczas przechowu próbek około 2 — 5 razy (patrz tabela II, kol. 4). Nie stwierdzono, aby próbki drożdży o większej ilości tej grupy drobnoustrojów wykazywały

Tabela I

Procentowy skład chemiczny suchej masy drożdży piekarnianych

Химический анализ хлебопекарных дрожжей

The chemical characteristics of the baker yeast (per cent of the dry weight)

Nr próbki	Rasa drożdży	Sucha masa drożdży	Azot ogólny	Azot białkowy	Różnica w zawartości azotu ogólnego i białkowego 4 — 5	Kwasowość drożdży w ml 0,1 n NaOH na 10 g drożdży
1	2	3	4	5	6	7
1	As	28,46	6,35	—	—	2,15
2	,,	28,10	6,85	—	—	2,50
3	,,	28,15	6,30	5,65	0,65	2,15
3a	,,	34,39	6,35	5,24	1,11	4,4
4	czeska	30,01	6,02	5,15	0,87	2,55
4a	,,	38,68	6,32	5,24	1,08	4,6
5	,,	28,04	6,52	—	—	—
6	,,	28,10	6,16	5,41	0,75	3,25
7	,,	27,76	6,10	5,43	0,67	2,55
8	,,	27,18	6,25	5,37	0,88	2,55
9	,,	28,34	6,14	5,40	0,74	2,55
10	,,	28,15	6,27	5,65	0'62	2,15
11	As	25,41	6,45	5,74	0,71	1,5
11a	,,	30,24	6,77	5,85	0,92	1,0
12	czeska	25,00	6,48	5,74	0,74	1,3
12a	,,	32,77	6,59	5,70	0,89	0,9
13	,,	25,38	6,72	5,99	0,73	0,9
13a	,,	32,11	6,81	5,97	0,84	1,1
14	,,	25,99	6,32	5,50	0,82	0,9
14a	,,	31,16	6,71	5,93	0'78	1,8
15	,,	26,62	7,67	6,64	1,03	1,8
15a	,,	31,44	7,72	6,37	1,35	1,5

Objaśnienie: próbki oznaczone liczbą z literą „a" pochodzą z próbki oznaczonej tą samą liczbą, lecz poddane analizie po tygodniowym ich przechowywaniu w temperaturze 10 do 14°.

wyższą kwasowość. W niektórych próbkach drożdży przechowywanych przez okres tygodnia nastąpił przyrost ilości komórek bakterii mlekowych przy jednoczesnym obniżeniu się kwasowości tych próbek (patrz

tabela I, kol 7 i tabela II, kol. 4, nr nr 11, 11a, 12, 12a 15, 15a). W badanych próbkach drożdży występowały w grupie bakterii mlekowych głównie ziarniaki a rzadziej pałeczki.

Tabela II

Zawartość różnych grup obcej mikroflory w drożdżach piekarnianych
Количество „чуждых" микроорганизмов в хлебопекарных дрожжах
The numbers of foreign microorganisms in the baker yeast

Nr próbki	Rasa drożdży	Ilość komórek w 1,0 g suchej masy drożdży					Żywotność drożdży %
		Bakterie proteolityczne	Bakterie mlekowe w milionach	Drożdże dzikie w milionach	*Oospora lactis*	Pleśnie	
1	2	3	4	5	6	7	8
1	AS	235	2,4	83,3	1785	931	93,3
2	„	5230	5,9	98,6	5100	1067	96,6
3	„	905	9,5	139,7	1890	2130	89,9
3a	„	3570	16,5	203,5	1935	2520	80,3
4	czeskie	2370	11,6	151,5	550	550	91,9
4a	„	18440	60,0	155,5	3660	5040	86,7
5	„	47.0	15,5	623,4	4160	475	79,4
6	„	14460	41,0	201,6	5340	356	90,1
7	„	9005	9,0	216,1	1320	370	81,2
8	„	4415	92,3	633,4	611	120	77,5
9	„	1410	58,2	361,8	2586	56	88,5
10	„	590	33,2	387,0	3960	1890	90,8
11	AS + czeskie	340	20,4	350,4	1460	170	93,2
11a	„	1665	37,7	527,0	620	1840	96,0
12	„	280	22,3	200,0	120	560	99,0
12a	„	2025	52,0	640,0	670	790	97,0
13	„	150	14,0	650,0	730	340	99,5
13a	„	860	17,7	970.5	640	410	80,7
14	„	1650	28,4	565,0	1760	930	97,5
14a	„	3620	92,8	1020,0	3410	2120	96,3
15	„	1450	53,2	510,1	1250	2140	95,6
15a	„	4105	25,0	1040,0	6050	2320	80,5

Objaśnienie: próbki oznaczone liczbą z literą „a" pochodzą z próbek oznaczonych tą samą liczbą, lecz poddane analizie po tygodniowym ich przechowywaniu w temperaturze 10 do 14°.

Nie wyjaśniony jest dotychczas bezpośredni wpływ tej grupy drobnoustrojów na drożdże prasowane, stwierdzono natomiast, że niektóre ich gatunki przyczyniają się do kłaczkowacenia drożdży podczas fermentacji (P l e w a k o i B a k u s z i n s k a, 1935). Z plonu skłaczkowanych drożdży trudno jest oddzielić resztki pożywki węglowodanowej podczas odwirowywania drożdży, co może ujemnie wpłynąć na trwałość drożdży.

Drożdży dzikich znaleziono więcej niż bakterii z grupy fermentacji mlekowej. Największa ich ilość wynosiła przeszło 650 milionów komórek na 1 g suchej masy produktu. Taka ilość drożdży dzikich wg przyjętych norm winna być uznana jednak za zupełnie niską. Przyjmując bowiem za Jörgensenem, że w 1 g świeżych drożdży prasowanych znajduje się średnio około 10^{10} komórek drożdży, a w przeliczeniu na 1 g suchej ich masy $3{,}5 \times 10^{10}$, znalezione w drożdżach świeżych 650 milionów komórek drożdży dzikich stanowiłyby tylko około 2% ilości komórek. Być może, iż badane próbki zawierały znacznie więcej komórek drożdży dzikich niż wykazała metoda posiewów. W drożdżach przechowywanych stwierdzono dwa razy więcej drożdży dzikich niż w drożdżach świeżych (patrz tabela II, kol. 5).

Z organizmów pleśniowych badano występowanie *Oospora lactis*, która występowała w niewielkich ilościach, maksymalnie około 5000 komórek na 1 g suchej masy drożdży. W czasie przechowywania ilość komórek *Oospora lactis* wzrastała, głównie na powierzchni cegiełek. Pleśń ta dawała wtedy widoczny biały nalot. Do posiewów pobierano próbki wymieszane z całego przekroju cegiełki i dlatego w średniej próbce znajdowano przyrost ilości *Oospora* znacznie mniejszy, niż można by sądzić ze wzrostu ich na powierzchni cegiełek drożdży (patrz tabela II, kol. 6).

Inne pleśnie znaleziono w niewielkiej ilości. W nielicznych próbkach było ich około 2500, a w jednej z przechowywanych próbek około 5 tysięcy na 1 g suchej masy drożdży (patrz tabela II, kol. 7).

Żywotność komórek drożdżowych oznaczano za pomocą błękitu metylenowego. Wahała się ona w granicach od 99% do około 77%, przy czym najniższą żywotność wykazywały przeważnie drożdże z tych próbek, w których znaleziono największe ilości drożdży dzikich (patrz tabela II, kol. 5 i 8).

W tabeli III zebrano dane o sile pędnej i trwałości badanych drożdży. Z danych tych widać, że wyniki oznaczeń siły pędnej metodą Meisela i metodą podnoszenia ciasta były ze sobą zgodne (za wyjątkiem próbki nr 9). Średnio siła pędna badanych drożdży świeżych wynosiła 128 minut (metodą podnoszenia ciasta, suma czasów 1 i 2). Czas podnoszenia ciasta drodży przechowywanych był bardzo zbliżony do czasu podnoszenia drożdży świeżych i wynosił średnio 123 minuty. Podobna siła pędna drożdży przechowywanych do siły pędnej drożdży świeżych wynikała ze stosowanej metody, wg której nie uwzględnia się zawartości suchej masy w próbkach drożdży odważonych do oznaczania. W naszych doświadczeniach zawartość suchej masy wzrosła w okresie przechowy-

Tabela III

Siła pędna i trwałość badanych drożdży

Подъемная сила и стойкость при хранении исследуемых дрожжей

The keeping quality of the samples of baker yeast

Nr próbki	Rasa drożdży	siła pędna		Trwałość w temperaturze 35° (w godzinach
		Metodą Meisela (w g CO_2)	Metodą podnoszenia ciasta (w minutach)	
1	2	3	4	5
1	AS	1,321	132	144
2	,,	1,447	119	72
3	,,	1,140	135	120
3a	,,	0,768	144	96
4	czeskie	1,320	125	96
4a	,,	1,163	131	48
5	,,	0,847	144	75
6	,,	0,983	134	68
7	,,	1,240	139	72
8	,,	0,687	151	75
9	,,	1,033	137	117
10	,,	0,920	132	120
11	AS + czeskie	—	100	—
11a	,,	—	100	169
12	,,	—	116	—
12a	,,	—	118	121
13	,,	—	125	210
13a	,,	—	121	180
14	,,	—	129	168
14a	,,	—	125	144
15	,,	—	122	216
15a	,,	—	127	139

Objaśnienie: próbki oznaczone liczbą z literą „a" pochodzą z próbek oznaczonych tą samą liczbą, lecz poddane analizie po tygodniowym ich przechowywaniu w temperaturze 10 do 14°.

wania o około 20%, zatem o taką ilość więcej drożdży brano do oznaczenia ich siły pędnej.

Drożdże wyprodukowane z kultur różnych ras różniły się pomiędzy sobą pod względem siły pędnej tylko w niewielkim stopniu. Tak np.

próbki drożdży wyprodukowanych z mieszanej kultury drożdży rasy czeskiej z rasą AS wykazywały najkrótszy czas podnoszenia ciasta, próbki drożdży rasy AS czas podnoszenia ciasta o 7% dłuższy w porównaniu z poprzednim, a drożdże rasy czeskiej o 16% dłuższy. Różnic tych nie można wytłumaczyć różnicami w zawartości obcej mikroflory, a zwłaszcza drożdży dzikich, które nie mają zdolności podnoszenia ciasta albo zdolność tę wykazują w niewielkim stopniu. Prawdopodobnie znalezione w badanych próbkach ilości drożdży dzikich nie wywierają widocznego wpływu na czas podnoszenia ciasta przez drożdże piekarniane (patrz tabela II, kol. 5 i tabela III, kol. 4).

Trwałość drożdży świeżych badano w temperaturze 35° aż do zmiany konsystencji. Wynosiła ona średnio 120 godzin. Dużą trwałością wśród badanych próbek odznaczały się drożdże wyprodukowane z mieszaniny kultury rasy czeskiej z rasą AS. Przeciętna trwałość tych drożdży wynosiła 195 godzin, podczas gdy trwałość drożdży wyprodukowanych z rasy AS wynosiła 112 godzin, co wynosiło 57% trwałości poprzednich, a trwałość drożdży wyprodukowanych z kultur rasy czeskiej tylko 89 godzin, tj. 45% trwałości drożdży pierwszych (patrz tabela III, kol. 5).

Na podstawie danych zebranych w tabeli II i III można stwierdzić, że zanieczyszczenia obcą mikroflorą w różnym stopniu wpłynęły na trwałość drożdży piekarnianych. Najbardziej ujemny wpływ wywarły bakterie proteolityczne, szczególnie gdy drożdże wykazywały niską trwałość (patrz tabela II, kol. 3 i 8 oraz tabela III, kol. 5, nr nr 2, 4, 5, 6, 7, 8). Obecność znacznych ilości drożdży dzikich przy niewielkiej ilości bakterii proteolitycznych wpłynęła ujemnie na trwałość drożdży, lecz w mniejszym stopniu jak przy obecności dużych ilości bakterii proteolitycznych (patrz tabela II, kol. 5 i tabela III, kol. 5, nr nr 13, 13a, 14).

Próbki drożdży nr 3, 9 i 10 miały niską trwałość, pomimo że zawierały one znacznie mniejsze ilości bakterii proteolitycznych, drożdży dzikich, bakterii mlekowych i *Oospora lactis*. Być może, że na trwałość tych drożdży wpłynęły czynniki tkwiące wewnątrz komórek, na co wskazywałaby obniżona żywotność tych drożdży (patrz tabela II, kol. 3, 4, 5, 6, 7, 8 i tabela III, kol. 5, nr 3, 9 i 10).

Zauważono również, że drożdże odznaczające się wysoką trwałością miały znacznie niższą kwasowość w porównaniu do kwasowości drożdży o niskiej trwałości. Kwasowość tych drożdży w okresie przechowywania obniżyła się lub wzrosła tylko w nieznacznym stopniu (patrz tabela I, kol. 7 i tabela III, kol. 5 nr 11, 11a, 12, 12a, 13, 13a, 15, 15a). Drożdże te przechowywane w ciągu miesiąca w temperaturze 10° do 14° nie zmieniły swej konsystencji na mazistą, lecz przeciwnie zeschły się przybierając konsystencję twardą.

Na ogół można stwierdzić, że drożdże badane przez nas odznaczały się większą trwałością niż drożdże produkowane w Polsce w 1928 roku i badane przez Iwanowskiego i Dembina (1928). Przeciętna trwałość ówczesnych drożdży wynosiła 50 godzin, a przeciętna dla niektórych fabryk nawet tylko 24 godziny przy wahaniach od 5 godzin do 120 godzin. Przyczyną tak niskiej trwałości ówczesnych drożdży

była, być może, nadmierna ilość obcej mikroflory a szczególnie drożdży kożuchujących, które według cytowanych autorów stanowiły ponad 30% ilości komórek oraz bakterii masłowych. Natomiast siła pędna ówczesnych drożdży była o wiele wyższa, wynosząc średnio 94 minuty, podczas gdy w drożdżach badanych przez nas wynosiła średnio 128 minut. Jest to interesujące w zestawieniu z ilością w obu produktach drożdży kożuchujących, które, jak wiadomo, wpływają na przedłużenie czasu podnoszenia ciasta. Różnice te mogą wynikać ze stosowania różnych metod produkcji drożdży, a szczególnie z różnicy w intensywności nawietrzania zacierów w czasie fermentacji. Stosowanie bowiem bardzo silnego nawietrzania dla uzyskania dużych wydajności drożdży i obniżenia wskaźnika zużycia melasu może spowodować wydłużenie czasu podnoszenia ciasta przez drożdże.

Zagadnieniami tymi zajmował się W a r b u r g, który stwierdził, że silne przewietrzanie środowisk hodowlanych wpływa na zwiększenie intensywności oddychania u drożdży. T r a u t w e i n i W a s s e r m a n (1931) badając intensywność oddychania u różnych ras drożdży wykazali, że istnieje zależność pomiędzy szybkością oddychania a szybkością fermentacji. M e i s e l zaś podaje, że tlenowe warunki hodowli drożdży wpływają nie tylko na typ przemiany ich materii, lecz również i na zmiany w budowie komórki.

OGÓLNE WNIOSKI

Z zebranych danych można wyprowadzić następujące wnioski:

1. Na trwałość drożdży w dużym stopniu może wpływać ilość zawartych w nich bakterii proteolitycznych (patrz tab. II, kol. 3 i tab. III, kol. 5 nr nr 2, 3a, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, i 15a).

2. Drożdże dzikie, *Oospora lactis* i inne pleśnie w ilościach znalezionych nie wpłynęły zupełnie lub wpłynęły w mniejszym stopniu na jakość drożdży (patrz tab. II, kol. 5, 6, 7, i tab. III, kol. 5, nr 13, 14, 15, 9, 10).

3. Nie stwierdzono zależności pomiędzy ilością bakterii mlekowych a trwałością drożdży (patrz tab. II, kol. 4 i tab. III, kol. 5 nr 9, 11a, 12a, 14, 14a, 15).

4. Drożdże odznaczające się dużą trwałością wykazywały spadek lub tylko nieznaczny wzrost kwasowości w okresie przechowywania (patrz tab. I, kol. 7 i tab. II, kol. 5, nr 11, 11a, 12, 12a, 13, 13a, 15, 15a).

5. Przechowywanie drożdży w ciągu tygodnia w temperaturze 10 do 14° wpłynęło ujemnie, przy tym silniejszy był wpływ przechowu na ich trwałość niż na ich siłę pędną.

Badania nad zagadnieniem wpływu różnych czynników na jakość drożdży piekarnianych należałoby powtórzyć na szerszym materiale i w taki sposób, aby można było dowolnie stosować poszczególne czynniki oraz ich kombinacje. Wydaje się, że ciekawe byłyby wyniki badań nad trwałością i siłą pędną różnych ras drożdży oraz hodowli mieszanej różnych ras drożdży piekarnianych.

Ст. Буяк и И. Флор

ВЛИЯНИЕ ИНФЕКЦИИ ЧУЖДОЙ МИКРОФЛОРОЙ НА КАЧЕСТВО ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ

Резюме

Целью настоящей работы является исследовать влияние разных инфекций на качество хлебопекарных дрожжей. Для этой цели дрожжи выработанные одним из заводов были подвергнуты химическому и микробиологическому анализу. На основании полученных результатов установлено:

1. На стойкость при хранении дрожжей может оказывать сильное влияние количество имеющихся в дрожжах протеолитических бактерий.

2. Обнаруженное количество „диких" дрожжей и других плесневых грибов в значительно меньшей степени повлияли на качество дрожжей, чем протеолитические бактерии.

3. Не обнаружено зависимости между числом молочнокислых бактерий и стойкостью дрожжей.

4. У дрожжей, отличающихся высокой стойкостью, наблюдается снижение или только незначительное повышение кислотности во время хранения их при температуре от 10^0 до 14^0.

5. Хранение дрожжей в течение недели при температуре от 10^0 до 14^0 оказало неблагоприятное влияние главным образом на их стойкость, а в гораздо меньшей степени на их подъемную силу.

St. Bujak and *I. Flor*

THE INFLUENCE OF THE INFECTION WITH FOREIGN MICROFLORA ON THE QUALITY OF BAKER-YEAST

Summary

The baker-yeasts from one of local yeast-factories were examined in the respect of their chemical and microbiological characteristics.

The keeping quality of yeast was influenced by the number of proteolytic bacteria per 1 g of the product.

The presence of the wild type yeast, of *Oospora lactis* and of other fungi in quantities detected has influenced the keeping quality to a lesser degree.

There were no correlation between the keeping quality of yeast and the number of lactic acid bacteria.

It was noted that acidity of the yeast of high keeping quality was diminished or only sligthly increased during storage.

The keeping quality of yeast deteriorated during storage at the temperature 10^o — 14^o.

LITERATURA

1. Eckstein Z., 1949: Fermentacja drożdżowa i biologiczna synteza białka, Chemia i Technika, t. III, str. 264, Warszawa.
2. Fred E. B. i Waksman S. A., 1928: Laboratory Manual of General Microbiology, Mc Graw-Hill Book Co., New York.

3. Giltner W., 1946: Laboratory Manual in General Microbiology, wyd. 3, J. Wiley, New York.
4. Iwanowski W. i Dembin J., 1928: Drożdże piekarniane fabryk Rzeczypospolitej Polskiej, *Przemysł Rolny* nr 8/9: 265, Warszawa.
5. Iwanowski W. i Brzeziński K., 1934: Zmiany zachodzące w drożdżach prasowanych w czasie ich przechowywania., *Przemysł chemiczny*, nr 5. Warszawa.
6. Jörgensen A., 1948: Microorganisms and fermentation, wyd. 2, London.
7. Meisel M. H., 1950: Funkcjonalnaja morfołogija drożżewych organismow, AN SSSR, Moskwa.
8. Plewako E. i Bakuszinska O., 1935: Aglutinacja piekarskich drożżej, *Mikrobiołogja*, 4: 523.
9. Prescott G. S., Winslow C. C. i Mc Crady M. H., 1946: Water Bacteriology, wyd. 6, J. Wiley, New York.
10. Trautwein K. i Wasserman J., 1931: Über die Atmung und Gärung von ober- und untergärigen Bierhefen, *Wochenschr. f. Brauerei.* 120.

SPIS TREŚCI

str.

B. Zabłocki i M. Rolicka: Wpływ sympleksów lipido-wielocukrowo-białkowych na wrażliwość gronkowców w stosunku do penicyliny 167

D. Shugar, A. Jarmolińska i A. Feltynowski: Obserwacje w mikroskopie elektronowym bakterii termofilnych . 177

J. Strzemska: Zagadnienie mykorizy u zbóż. Cz. IV. Jęczmień . 183

J. Strzemska: Wyniki badań nad mykorizą u zbóż 191

I. Januszewicz: Zmiany własności biochemicznych szczepu *L. mesenteroides* w zależności od różnych warunków przechowywania . 205

St. Bujak i I. Flor: Wpływ zakażeń obcą mikroflorą na jakość drożdży piekarnianych 219

СОДЕРЖАНИЕ

стр.

Б. Заблоцки и М. Ролицка: Влияние липидо-полиозо-белковых симплексов на чувствительность стафилококков к пенициллину 167

Д. Шугар, А. Ярмолинска и А. Фельтыновски: Наблюдения над термофильными бактериями исследуемыми под электронным микроскопом 177

Я. Стржемска: Микориза у хлебных злаков. Часть IV. Ячмень 183

Я. Стржемска: Исследования над микоризой у хлебных злаков 191

И. Янушевич: Изменение биохимических свойств штамма *Leuconostoc mesenteroides* в зависимости от условий хранения . . . 205

Ст. Буяк и И. Флор: Влияние инфекции чуждой микрофлорой на качество хлебопекарных дрожжей 219

CONTENTS

B. Zabłocki and M. Rolicka: The influence of lipoid-polysaccharide-protein-complex on the susceptibility of staphylococci to penicillin 167

D. Shugar, A. Jarmolińska and A. Feltynowski: Some electron microscope observations on thermophilic bacteria . . 177

J. Strzemska: The mycorrhiza of corn plants. P. IV. Barley . . 183

J. Strzemska: Investigations on the mycorrhiza in corn plants . 191

I. Januszewicz: The changes in the dextran-synthesis ability of *Leuconostoc mesenteroides* and their dependance on the method of preservation of the cultures 205

St. Bujak and I. Flor: The influence of the infection with foreign microflora on the quality of baker yeast 219

Cena zł 10.—